



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa

CARACTERIZAÇÃO AGRONÓMICA E FITOQUÍMICA DE SEIS ESPÉCIES SILVESTRES DE *RUBUS* L.

Pedro Miguel Fernandes Vieira Trindade

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica - Hortofruticultura e Viticultura

Orientador: Professora Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira

Co-orientador: Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira

Júri:

Presidente: Doutor Ernesto José de Melo Pestana de Vasconcelos, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira, Professora Associada com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

Doutora Mariana da Silva Gomes Mota, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Maria Cláudia Godinho Ferreira Dias Nunes dos Santos, Investigadora do Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica

Lisboa, 2013

Agradecimentos

O meu primeiro agradecimento vai para os meus pais, avós e namorada, por tudo. Pelo amor, pelo exemplo de vida, pelo suporte emocional que me têm dado, pela coragem e dedicação. Pela força constante que em mim depositam e por tudo o que me transmitiram e me transmitem, que Deus Vos Abençoe.

À minha família e aos amigos, pela amizade, boa disposição, companheirismo e fraternidade, que Deus vos mantenha em mim, sempre presentes.

À Casa Agrícola Quinta do Arripiado de Baixo e aos tios Ruy d'Andrade e Ana d'Andrade pela disponibilidade de instalação do ensaio e pelo apoio incondicional nestes dois anos de faculdade.

À Professora Doutora Cristina Oliveira, pela orientação, pelo profissionalismo que me incutiu, pela disponibilidade e preocupação constantes com o decorrer deste trabalho e pela revisão final.

Ao Doutor Pedro Brás de Oliveira por todos os ensinamentos, dedicação e ajuda que sempre me facultou. Pela sua força e perseverança na investigação, pelo seu sentido crítico, boa disposição e amizade. Sem ele, tudo seria uma eterna incerteza.

Ao ISA, pelos professores, colegas e amigos que aqui fiz e por todo o apoio prestado na realização do trabalho.

Ao Instituto Nacional de Investigação Agrária, ao Instituto de Tecnologia Química e Biológica e ao Projeto Europeu FP7 EUBERRY GRANT AGREEMENT Nº 265942 pela oportunidade de realização deste trabalho e por todo o apoio prestado.

À Doutora Cláudia Nunes dos Santos pelo acompanhamento e dedicação ao meu trabalho, à Doutora Lucélia Tavares, à Dra. Inês Figueira e restante equipa, por toda a ajuda e auxílio prestados e à Doutora Teresa Valdivieso pela partilha de conhecimentos e ajuda na observação dos cromossomas.

Ao pessoal da Horticultura da Unidade Estratégica de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, pela amizade, companhia, ajuda e ensinamentos prestados.

Ao pessoal técnico da Herdade Experimental da Fataca, em especial à Anabela Reis e à Francisca Loureiro, pela ajuda preciosa, por tanta hora dedicada ao meu trabalho, sem eles seria tudo muito mais difícil.

À Escola Superior Agrária de Beja, pelo espírito que em mim ainda resiste, por todos os conhecimentos transmitidos, pelos professores, colegas e amigos que aqui fiz.

E por fim a todos aqueles que de alguma forma me ajudaram na realização deste trabalho, aqui deixo o meu sincero agradecimento.

Resumo

O interesse na exploração de amoras silvestres Europeias, resultado do elevado potencial para a saúde, tem levado os investigadores a considerarem possíveis introduções deste germoplasma em programas de melhoramento. Dado Portugal ter um elevado número destas espécies, foram efetuados ensaios agronómicos, de qualidade e fitoquímicos com algum deste material. No primeiro ensaio, o de caracterização agronómica, apenas as espécies *R. henriquesii* e *R. sampaioanus* apresentaram características vegetativas e produtivas aceitáveis. A colocação das plantas no frio produziu percentagens de abrolhamento significativamente diferentes nos lançamentos terciários e causou um efeito de precocidade, registando produções superiores. No terceiro ensaio, a prática de atarraque de cachos na *R. radula* e *R. henriquesii* concluiu-se não ser vantajosa no aumento do calibre do fruto. No último ensaio foi demonstrada a variabilidade fenotípica da espécie *R. ulmifolius*. Quanto à qualidade organolética, as espécies que apresentaram maior teor em sólidos solúveis totais (SST) foram a *R. radula* modalidade atarraque e *R. henriquesii*. A acidez titulável e pH não apresentaram diferenças significativas. Na caracterização fitoquímica, a *R. henriquesii* e *R. radula* foram as que apresentaram maior teor em fenóis e a *R. vigoii* em capacidade antioxidante. Provou-se ainda que a espécie *R. ulmifolius* var. “Sommer” é diploide.

Palavras-chave: Amoras silvestres, caracterização agronómica e fitoquímica, produção

Abstract

The interest in exploring the European wild blackberries, resulting of the high potential for health, has led the researchers to consider possible introductions of this germplasm in breeding programmes. As Portugal has a large number of these species, trials have been conducted in order to characterize agronomic, quality and phytochemical traits of some of this material. On the first trial, the agronomic characterization, only two *R. henriquesii* and *R. sampaioanus* showed acceptable vegetative and productive characteristics. The cold trial produced significantly different percentages of bud break in tertiary canes and caused an effect of earliness, showing higher production. In the third trial, the technique of pruning the clusters in *R. radula* and *R. henriquesii*, concluded not to be useful increasing the fruit size of these species. In the last trial, it was demonstrated the phenotypic variability of the species *R. ulmifolius*. Were still performed three characterizations, the species with the highest content of total soluble solid (TSS) was the *R. radula* “pruning” and *R. henriquesii*. Total acidity and pH showed no significant differences. Concerning phytochemical characterization, the *R. henriquesii* and *R. radula* showed the highest content in phenols, and *R. vigo* in antioxidant capacity. Chromosome counting has shown that the variety “Sommer” is diploid.

Keywords: Wild blackberries, agronomic and phytochemical characterization, production

Extended abstract

In the last decades there was an increased interest in exploring the European wild blackberries because of the high potential presented by these species. Due to the biodiversity there are some investigators who are introducing these species. Trials were made to present the agronomic quality and phytochemical profile of some species present in the Portuguese territory. Five species: *R. vigo*; *R. radula*; *R. henriquesii*; *R. sampaioanus* and *R. brigantinus* were cultivated during the first trial (Agronomic Characterization). Several parameters were analyzed including vigor, bud break, precocity and species production. In all these species only two *R. henriquesii* and *R. sampaioanus* showed acceptable vegetative and productive characteristics (quantity and quality production). The low percentages of bud break obtained on the species studied (from Portugal, Trás-os-Montes region) show there is a higher requirement of chilling. Due to these results the cultivation of these species on the South and along the coastline can present problems. On the second trial, the chilling effect on the bud break and floral differentiation of species *R. vigo* was tested. On 23rd January 2012 plants were submitted to chilling during approximately 1800 hours to a temperature of about 0°C and were removed 10th April 2012. The method used on the tertiary canes produced significant differences in the percentages of bud break, resulting on a precocity effect on the plants. This method anticipated in almost a week the period of first visible fruit and the number of inflorescences in primary canes. In the cold mode the total and commercial production was significantly higher and presented a lower percentage of fruit waste, improving significantly the performance of the species. However, this technique requires the production in substrate. On the third trial the pruning of the clusters was tested on *R. radula* and *R. henriquesii* to increase the diameter of the fruit. This technique was applied after the first fruit visible and led to the break of the total and commercial production per plant. This method didn't present any advantage because it didn't change the diameter of the fruit. On the last trial the phenotypic variability was observed on the species *R. ulmifolius*. This variability was demonstrated because all the analyzed characteristics present significant differences. The varieties that presented fruit with more weight were *R. ulmifolius* "Fataca" and *R. ulmifolius* "Sommer". *R. ulmifolius* "Sommer" presented a fruit with a completely different shape in relation to the others two. This species presented superior longitudinal than transversal diameter (cylindrical). The other two are spherical. After the trial three characterizations were made. The first was about the fruit quality where several parameters were analyzed: biometric and physicochemical. In the beginning of the production the species that presented a higher content of total soluble solid (TSS)

was the *R. radula* “pruned”. In the middle of the production the higher contents were presented by *R. henriquesii*. In the cold mode the species with the lowest levels were *R. sampaioanus* and *R. vigoi*. In the species *R. radula* with and without “pruning” the percentage of dry matter was higher. The *R. vigoi* in the cold mode presented the lowest percentage of dry matter. The values of total acidity and pH showed no significant differences between species. In an attempt to export the fruit these blackberries presented a long shelf life. They show the need of improvement in what respect the size, acidity, aroma and flavor of the fruit. The market showed great receptivity of this type of berries. In the phytochemical characterization the values of total phenols and antioxidant capacity were observed in all the tested species. The species *R. henriquesii* and *R. radula* showed the highest content in total phenols. The values of antioxidant capacity were higher in *R. vigoi* followed by the species *R. henriquesii* and *R. ulmifolius* “Fataca”. The last characterization showed that variety *R. ulmifolius* significantly different characteristic from the standard is diploid. If it presented a different degree of polymorphism it could explain the differences presented in relation to the standard specie. Generally, wild species *R. henriquesii* and *R. sampaioanus* showed high agronomic value that should be combined with high variability of species *R. ulmifolius* “Sommer” and “Fataca”. However, the species *R. henriquesii* and *R. sampaioanus* and variety “Fataca”, should be submitted to studies of chromosomal count. Future breeding programmes should go towards increasing the fruit size, best yields (economic sustainability), higher aroma and flavor, never losing the characteristics of the high phytochemical value. The breeding programmes should preserve the wild qualities of the species in order to give them added value in the marketing and sectioning market differentiating these species from the commercial cultivars.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Extended abstract	iv
Lista de símbolos e abreviaturas	xi
1.Introdução	1
2.Revisão Bibliográfica	3
2.1-Pequenos frutos.....	3
2.2-As Amoras	3
2.2.1-Botânica	3
2.2.2-Biologia da planta	7
3.Material e Métodos.....	12
3.1-Localização dos ensaios	12
3.2-Material Vegetal	12
3.2.1- <i>Rubus vigo</i> i	13
3.2.2- <i>Rubus radula</i>	13
3.2.3- <i>Rubus henriquesii</i>	13
3.2.4- <i>Rubus sampaioanus</i>	13
3.2.5- <i>Rubus brigantinus</i>	13
3.2.6- <i>Rubus ulmifolius</i>	14
3.2.7-Local de colheita do material vegetal	14
3.3-Delineamento Experimental	15
3.3.1-Ensaio de caracterização agronómica.....	15
3.3.2-Ensaio do efeito do frio na espécie <i>Rubus vigo</i> i	16
3.3.3-Ensaio de atarraque de cachos	16
3.3.4-Characterização da qualidade do fruto.....	16
3.3.5-Ensaio <i>Rubus ulmifolius</i>	17
3.3.6-Observação de pragas e doenças.....	17
3.3.7-Characterização fitoquímica	18
3.3.8-Characterização citogenética de uma variedade da espécie <i>Rubus ulmifolius</i>	19
3.4-Tratamento dos dados	19
3.5-Registos e Observações	19
3.5.1-Ensaio de caracterização agronómica.....	19
3.5.2-Ensaio do efeito do frio na espécie <i>Rubus vigo</i> i	20
3.5.3-Ensaio de atarraque de cachos	20
3.5.4-Characterização da qualidade do fruto.....	21
3.5.5-Ensaio <i>Rubus ulmifolius</i>	21
3.5.6-Characterização citogenética de uma variedade da espécie <i>R. ulmifolius</i>	21
4.Resultados e Discussão	24

4.1-Ensaio de caracterização agronómica.....	24
4.1.1-Número, diâmetro, comprimento e número de nós por lançamento	24
4.1.2-Abrolhamento	26
4.1.3-Fenologia.....	27
4.1.4-Número de inflorescências por lançamento, nas cinco espécies	27
4.1.5-Characterização da inflorescência	28
4.1.6-Padrão de maturação das inflorescências	29
4.1.7-Duração do período de colheita	29
4.1.8-Produção	30
4.2-Ensaio do efeito do frio na espécie <i>Rubus vigo</i>	32
4.2.1-Abrolhamento	32
4.2.2-Fenologia.....	32
4.2.3-Número de inflorescências por lançamento.....	32
4.2.4-Characterização da inflorescência	33
4.2.5-Duração do período de colheita	34
4.2.6-Produção	34
4.3-Ensaio de atarraque de cachos	35
4.3.1-Produção	35
4.4.Characterização da qualidade do fruto.....	37
4.4.1-Sólidos solúveis totais (SST) e percentagem de matéria seca	37
4.4.2-Acidez titulável e pH	38
4.4.3-Razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal.....	39
4.4.4-Comercialização de amoras silvestres	40
4.5-Ensaio <i>Rubus ulmifolius</i>	41
4.5.1-Characterização do fruto	41
4.6-Observação de pragas e doenças	42
4.7-Characterização fitoquímica	44
4.8-Characterização citogenética de uma variedade da espécie <i>R. ulmifolius</i>	45
4.9-Avaliação global do perfil agronómico e fitoquímico das espécies	47
5.Conclusões	52
6.Referências Bibliográficas	53
Anexo I-Padrão de maturação das inflorescências das diferentes espécies presentes no ensaio de caracterização agronómica	56

Índice de Figuras

Figura 1-Crescimento vegetativo da amora silvestre a partir da coroa central. Nota: Imagem retirada de DiTomaso, (2002).....	8
Figura 2-Túneis da Herdade Experimental da Fataca, onde foram instalados alguns ensaios...	22
Figura 3-Disposição das plantas nos vasos e nas linhas, pormenor do sistema de condução...	22
Figura 4-Silvados utilizados no ensaio, Quinta do Arripiado de Baixo.....	22
Figura 5-Sistema de fertirrega utilizado na Herdade Experimental da Fataca	23
Figura 6-Método de determinação dos sólidos solúveis totais.....	23
Figura 7-Preparação do material para a determinação da percentagem de matéria seca, após terem vindo da estufa.....	23
Figura 8-Duração dos estados fenológicos nas cinco espécies. 1-Bouquet com 3 folhas; 2-Botão floral verde, fechado; 3-Fruto vingado.....	27
Figura 9-Duração dos estados fenológicos na <i>R. vigoii</i> . 1-Bouquet com 3 folhas; 2-Botão floral verde, fechado; 3-Fruto vingado.....	32
Figura 10-Sólidos solúveis totais nos 5 % e 50 % da produção. N=3 plantas para <i>R. henriquesii</i> , <i>R. henriquesii</i> atarraque e <i>R. radula</i> atarraque; N=4 plantas para <i>R. radula</i> e <i>R. sampaioanus</i> ; N=6 plantas para <i>R. brigantinus</i> e <i>R. vigoii</i> . As barras representam duas vezes o erro da média.....	37
Figura 11-Percentagem de matéria seca. N=3 plantas para <i>R. henriquesii</i> , <i>R. henriquesii</i> atarraque e <i>R. radula</i> atarraque; N=4 plantas para <i>R. radula</i> e <i>R. sampaioanus</i> ; N=6 plantas para <i>R. brigantinus</i> e <i>R. vigoii</i> . As barras representam duas vezes o erro da média.....	38
Figura 12-Acidez titulável e pH. N=3 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média. Nota: Para a acidez titulável o SE=0	39
Figura 13-Razão diâmetro transversal (DT)/diâmetros longitudinal (DL). N=10 frutos. As barras representam duas vezes o erro da média.....	39
Figura 14-Acidez titulável e pH. N=3 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média. Nota: Para a acidez titulável o SE=0.....	42
Figura 15-Fenóis (mg Equivalentes de Ácido Gálico/g peso seco) e Capacidade Antioxidante (mmol Equivalentes Trolox/10 g peso seco). N=9 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média	44
Figura 16-Célula de <i>R. ulmifolius</i> “Sommer”; cromossomas em interfase 2n=14. Nota: A célula é a mesma com diferentes focagens.....	46
Figura 17-Cromossomas de <i>R. ulmifolius</i> “Sommer” 2n=14.....	46
Figura 18-Plantas de <i>R. vigoii</i> que não foram ao frio, à esquerda e que foram ao frio, à direita.....	48
Figura 19-Plantas de <i>R. vigoii</i> que foram ao frio, à esquerda. Na imagem da direita pode-se visualizar a diferença na percentagem de abrolhamento, entre uma planta que foi ao frio e outra que não foi	48
Figura 20-Ferrugem em folhas de <i>R. sampaioanus</i> e nos lançamentos de de 2ºano de <i>R. radula</i>	49
Figura 21-Afífeos em lançamentos do ano (turiões).....	49

Figura 22-Alternariose em folhas da espécie <i>R. radula</i>	49
Figura 23-Botrytis em frutos da espécie <i>R. vigoi</i>	50
Figura 24-Fitoplasma numa planta da espécie <i>R. henriquesii</i>	50
Figura 25-Amostragem de frutos das espécies estudadas.....	51
Figura 26-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie <i>R. radula</i> . Ordem de maturação está representada de “1” a “6”	56
Figura 27-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie <i>R. henriquesii</i> . Ordem de maturação está representada de “1” a “6”	56
Figura 28-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie <i>R.sampaioanus</i> . Ordem de maturação está representada de “1” a “6”	56
Figura 29-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie <i>R.brigantinus</i> . Ordem de maturação está representada de “1” a “6”	56
Figura 30-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie <i>R.vigoi</i> . Ordem de maturação está representada de “1” a “6”	57

Índice de Quadros

Quadro 1-Coordenadas dos locais de colheita do material vegetal	15
Quadro 2-Número de lançamentos primários, secundários e terciários, diâmetro, comprimento e número de nós dos mesmos.	25
Quadro 3-Abrolhamento dos gomos (em percentagem) por lançamento primário, secundário e terciário nas cinco espécies.....	26
Quadro 4-Número de inflorescências por lançamento primário, secundário e terciário para as cinco espécies.....	27
Quadro 5-Comprimento e diâmetro das inflorescências, número de frutos colhidos e não colhidos, percentagem de frutos não colhidos e razão frutos não colhidos/frutos colhidos.....	29
Quadro 6-Números de dias até ao pico da colheita, datas de produção e número de dias em colheita para a cinco espécies.....	30
Quadro 7-Produção total e comercial em gramas percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas nas cinco espécies	31
Quadro 8-Percentagem de abrolhamento por lançamento primário, secundário e terciário na espécie <i>R. vigoii</i>	32
Quadro 9-Número de inflorescências por lançamento primário, secundário e terciário na espécie <i>R. vigoii</i>	33
Quadro 10-Comprimento e diâmetro das inflorescências, número de frutos colhidos, não colhidos e percentagem de não colhidos, na <i>R. vigoii</i>	33
Quadro 11- Números de dias até ao pico da colheita, datas de produção e número de dias em colheita, espécie <i>R. vigoii</i>	34
Quadro 12- Produção total e comercial em gramas percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas <i>R. vigoii</i>	35
Quadro 13-Produção total e comercial em gramas, percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas, ensaio atarraque na <i>R. radula</i>	35
Quadro 14-Produção total e comercial em gramas percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas ensaio atarraque na <i>R. henriquesii</i>	36
Quadro 15-Análise da comercialização	40
Quadro 16-Peso do fruto, razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal, SST e percentagem de matéria seca.....	41
Quadro 17-Avaliação final da caracterização agronómica e fitoquímica das espécies	47

Lista de símbolos e abreviaturas

INIAV-Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

ITQB-Instituto de Tecnologia Química e Biológica

UESAFSV-Unidade Estratégica de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal

HEF-Herdade Experimental da Fataca

c/frio-com frio

s/frio-sem frio

c/atarraque- com atarraque

s/atarraque- sem atarraque

SST-Sólidos Solúveis Totais

A. T.-Acidez Titulável

EAG-Equivalentes de Ácido Gálico

ORAC- *Oxygen Radical Absorvance Capacity*

1.Introdução

Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento do interesse na exploração de amoras silvestres Europeias (Iwastshubo, 1995). Muitas destas espécies fornecem uma importante fonte de alimentação a partir da produção comercial, bem como da colheita de frutos em plantas selvagens. Os programas de melhoramento têm incidido apenas sob uma pequena fração destas espécies (Thompson, 1995), com consequente perda de biodiversidade. Esta redução de biodiversidade representa uma séria ameaça para a agricultura e o bem-estar das pessoas, é ela que nos fornece os caracteres que permitem aumentar a produção, a qualidade, a resistência a doenças e pragas e a necessária capacidade de adaptação às condições climáticas em alteração (Oliveira *et al.*, 2012). Deighton *et al.* (2000) sugerem uma introdução de germoplasma de amoras silvestres em programas de melhoramento, dado o potencial valor para a saúde apresentado por algumas destas espécies. A ingestão de pequenos frutos com capacidades antioxidantes pode causar impactos positivos na saúde humana (Tavares *et al.*, 2013). Portugal apresenta elevada diversidade destas plantas e simultaneamente uma enorme diversidade química por explorar (Tavares *et al.*, 2013). Esta diversidade é resultado da necessidade que as plantas têm em produzir um vasto repertório de substâncias com funções de defesa e proteção, sintetizando compostos fenólicos que atuam quer absorvendo a radiação nas camadas epidérmicas dos tecidos, quer regulando o sistema antioxidante nas células ou no próprio organismo (Pimpão, 2009).

Dado o elevado número de espécies silvestres de amora em Portugal, foram efetuados ensaios com o objetivo de dar a conhecer o perfil agronómico, de qualidade e fitoquímico de algumas destas espécies presentes em território Português. O primeiro ensaio, o de caracterização agronómica, veio no seguimento de um estudo desenvolvido pelo Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB) da Universidade Nova de Lisboa em parceria com o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) ambos em Oeiras, no qual pretendeu-se testar a introdução das espécies silvestres *R. vigo*; *R. radula*; *R. henriquesii*; *R. sampaioanus* e *R. brigantinus* em cultura (condições favoráveis a um melhor desenvolvimento vegetativo e produtivo). No segundo ensaio pretendeu-se testar o efeito do frio no abrolhamento e diferenciação da flor na espécie *R. vigo* e veio no seguimento dos estudos realizados por (Oliveira *et al.*, 2012), nos quais esta espécie sob cultura protegida, não diferenciou flor apesar de enorme crescimento vegetativo. No terceiro ensaio pretendeu-se testar o efeito da prática de atarraque de cachos no aumento do calibre

do fruto das espécies *R. radula* e *R. henriquesii* uma vez que nos estudos levados a cabo por (Oliveira *et al.*, 2012) estas espécies foram as que globalmente apresentaram melhores resultados. No último ensaio pretendeu-se observar a variabilidade fenotípica da espécie *R. ulmifolius*, dado esta pertencer a um grupo com um amplo número de formas transitórias com várias localizações, onde surgiram microespécies endémicas (Gustafsson, 1939). Foram ainda realizadas três caracterizações, a primeira foi respeitante à qualidade do fruto, sendo analisados uma série de parâmetros biométricos e físico-químicos e a tentativa de exportação do fruto. A segunda caracterização foi fitoquímica, onde foram observados os valores correspondentes aos fenóis e à capacidade antioxidante para todas as espécies ensaiadas. Na última caracterização foi realizada a contagem do número de cromossomas de uma variedade da espécie *R. ulmifolius* com características significativamente diferentes do padrão da espécie na forma e tamanho do fruto.

Pretendeu-se assim responder às questões relacionadas com a adaptação destas espécies ao local e ao sistema de produção, quais as características vegetativas e produtivas das espécies (quantidade e qualidade da produção) e, por fim, a sustentabilidade económica uma vez que podem assumir um elevado valor acrescentado na comercialização, em seccionamentos de mercado.

2.Revisão Bibliográfica

2.1-Pequenos frutos

Desde os tempos pré-históricos que a humanidade e várias espécies de animais têm sido atraídas por plantas com bagas comestíveis. De um modo geral estas bagas são carnudas, comestíveis, de forma arredondada e tamanho pequeno, independentemente da sua estrutura (Moore e Skirvin, 1990). Atualmente o consumo e interesse têm aumentado, estando associados a uma série de compostos fitoquímicos biologicamente ativos, presentes nos pequenos frutos, capazes de promover a saúde e retardar o aparecimento de doenças neuro-degenerativas (Oliveira *et al.*, 2012).

A cultura dos pequenos frutos deve ser entendida no seu sentido mais lato, isto é, incluindo a cultura do morango, framboesa, mirtilo, amora e groselha. Adaptados a regiões temperadas, os pequenos frutos definem-se como frutos simples, que derivam unicamente do tecido do ovário e apresentam pericarpo de textura carnuda (Moore e Skirvin, 1990). Dentro da cultura das amoras, as amoras silvestres constituem um grupo com um número muito elevado de espécies, apresentando algumas delas enorme adaptabilidade edafo-climática.

2.2-As Amoras

2.2.1-Botânica

2.2.1.1-O Género *Rubus* L.

O Género *Rubus* L. é um dos géneros mais diverso no reino vegetal, contendo um elevado número de plantas selvagens. Focke nas suas monografias publicadas dividiu o género em 12 subgéneros; destes, um contém framboesas, outro contém amoras, dois contêm frutos do ártico e um contém ornamentais. Os restantes contêm espécies domesticadas (Jennings, 1988). Estima-se que o número de espécies alcance as 600 a 800 (Thompson, 1995), e que dessas, 250 sejam sexuais e inúmeras outras sejam apomíticas (Naruhashi, 2002). Este género apresenta uma elevada distribuição mundial e foi encontrado em todos os continentes. Nas últimas décadas, muitas novas espécies têm sido descritas e vários estudos têm sido realizados em floras locais, clarificando espécies e sinónimas. As discordâncias entre taxonomistas, principalmente no subgénero *Rubus* na Europa e Nordeste da América são comuns, dada a prevalência de hibridações interespecíficas, poliploidia e várias formas de apomixia (Thompson, 1995). As espécies poliploides são conhecidas por serem abundantes, embora o número de cromossomas de

muitas espécies seja desconhecido (Iwastshubo, 1995). Anteriores contagens de cromossomas em amoras Europeias sofreram em parte falsas determinações e algumas espécies foram investigadas sob nomes sinónimos ou pseudónimos (Iwastshubo, 1995).

Pertencendo à família *Rosaceae*, inclui arbustos sublenhosos ou plantas rasteiras herbáceas, perenes. Os lançamentos do primeiro ano (turiões) são estéreis, glabros ou com pêlos (Monasterio-Huelin, 1988). Estes arbustos são geralmente aculeados. Os lançamentos que emitem são lenhosos e bienais, de onde no segundo ano resultam os eixos floríferos (Coutinho, 1939). Franco (1971) na sua monografia considera-os ervas vivazes a arbustos escandentes, frequentemente aculeados. As folhas são alternas, pecioladas, com 3-7 folíolos, nas de 3, os folíolos basais podem apresentar lóbulos com inserções muito profundas (Monasterio-Huelin, 1988). As inflorescências são terminais e laterais, e aparecem nos ramos de segundo ano. Nalgumas espécies herbáceas os lançamentos férteis podem nascer diretamente da raiz. As flores são hermafroditas, por vezes solitárias, em espécies extraibéricas podem ser unissexuais (Monasterio-Huelin, 1988). Os carpelos estão inseridos sobre o receptáculo com estiletes subterminais (Coutinho, 1939). Os frutos são um aglomerado de drupas, designadas por drupéolas, de cor vermelha, preta ou preta-azulada (Monasterio-Huelin, 1988). Apresentam endocarpo lenhoso, delgado, reticulado-alveolado (Coutinho, 1939).

2.2.1.2-Taxonomia e Classificação

A taxonomia e distribuição das espécies do género *Rubus* L. estiveram desde os tempos iniciais com Focke até hoje envoltas em controvérsia. Embora tivesse existido uma recolha de material vegetal exaustiva na maior parte dos continentes, os trabalhos de Focke apresentavam ainda muitas imperfeições. O conhecimento é agora mais completo, mas alguns botânicos continuam a preferir a subdivisão básica de Focke. Existe uma considerável diferenciação entre o subgénero *Eubatus* (amoras), *Idaeobatus* (framboesas) e o subgénero *Malachobatus*, este último não apresenta importantes espécies frutíferas (Jennings, 1988). O subgénero *Eubatus* é extremamente variável, complexo e heterogéneo. Bailey (1941-1945) reconheceu mais de 350 espécies de *Eubatus*. Este subgénero habita principalmente nas regiões temperadas do Noroeste da Ásia, Europa, Norte de África, América do Norte e nas montanhas da América do Sul (Moore e Skirvin, 1990).

Linnaeus distinguiu duas formas europeias de amoras, *Rubus fruticosus* e *Rubus caesius*, na primeira incluiu as espécies que agora são consideradas as verdadeiras amoras (Jennings, 1988). Focke colocou as amoras no subgénero *Eubatus*, tendo este considerado

duas secções, a *Moriferi* e a *Ursini*. Na *Moriferi* estão compreendidas as amoras europeias e as das zonas mais orientais da América do Norte e possui três subsecções: *Discolores*, *Appendiculati* e *Sylvatici*, na *Ursini* estão incluídas as formas de amoras da América Ocidental (Jennings, 1988).

As amoras pertencentes ao grupo europeu, com origem em espécies diplóides e poliplóides, recebem muitas vezes a designação de *R. fruticosus*, resultado das enormes controvérsias que este grupo apresenta (Finn e Clark, 2012).

Numa tentativa de classificar as espécies e indo um pouco de encontro ao que Focke escreveu optou-se pela classificação seguida por Monasterio-Huelin (1988) na Flora Ibérica. Esta opção prendeu-se com o facto de esta obra ser a mais recente, e a que apresenta em maior número as espécies silvestres da Península Ibérica. Monasterio-Huelin (1988) dividiu o género *Rubus* L. em três subgéneros: *Cylactis*, *Idaeobatus*, e por último o subgénero *Rubus* L., onde se encontram classificadas todas as espécies selvagens apresentadas neste trabalho. Dividiu o subgénero *Rubus* L. em três secções: *Caesii*, *Corylifolii* e *Rubus* L.. Todas as amoras selvagens presentes no trabalho pertencem ao sector *Rubus* L.. Por sua vez a secção *Rubus* L. foi dividida em nove séries: *Canescentes*, *Discolores*, *Glandulosi*, *Hystrix*, *Pallidi*, *Radula*, *Rhamnifolii*, *Sylvatici* e *Vestiti*. A espécie *R. sampaioanus* pertence à série *Sylvatici*, as espécies *R. ulmifolius* e *R. vigoii* à série *Discolores*, as espécies *R. radula* e *R. henriquesii* à série *Radula* e por fim a espécie *R. brigantinus* pertencente à série *Hystrix*.

2.2.1.3-Endemismos Europeus e Ibéricos

Na Península Ibérica está presente um elevado número de espécies selvagens. Mais de uma dezena destas espécies estão presentes no Norte e Centro de Portugal, em maior número na região de Trás-os-Montes e Alto Douro. Segundo Franco (1971) a espécie *R. ulmifolius* é de longe a mais comum, e a única encontrada no Sul de Portugal, sendo a *R. hochstetterorum* endémica dos Açores.

Haskell (1961) citado por Jennings (1988) apontou para a provável relação entre a diversidade da amora e a delimitação sul das glaciações. As duas últimas glaciações provavelmente também tiveram uma grande influência na flora de amoras europeias. Segundo Jennings (1988) a maior parte das amoras ocorre em áreas que foram cobertas com gelo durante as glaciações, porém existem várias áreas onde não ocorreram glaciações e mantiveram uma flora pré-glacial. Estas encontram-se em Portugal e nos Pirenéus, Suíça, Síria e nas montanhas do Cáucaso. Tanto as amoras diplóides como poliplóides ocorrem

frequentemente nestas zonas, mas os tipos encontrados têm uma formação de pólen muito mais regular do que as poliplóides encontradas nas áreas anteriormente glaciais.

As diferentes amoras poliplóides europeias mostram um padrão interessante de distribuição. Gustafsson (1942) citado por Jennings (1988) registou que a tendência mais notável foi de uma alta proporção de tipos *Sylvatici* e *Discolores* em populações de amora a Norte e Oeste da Europa, nomeadamente na Escandinávia, Reino Unido e Portugal. Em Portugal o maior número de espécies silvestres encontra-se na região de Trás-os-Montes e Alto Douro.

2.2.1.4-Compostos fitoquímicos na amora silvestre

Desde há muito que a amora (*Rubus* spp.) tem sido considerada a favorita dentro dos frutos selvagem, dada a frequência de espécies espontâneas em vários países de todo o mundo, tem sido utilizada para fins pessoais ou comerciais (Strik *et al.*, 2008).

Segundo Deighton *et al.* (2000) o potencial valor das espécies selvagens de *Rubus* é elevado, considerando que devem ser introduzidas em programas de melhoramento existentes, de forma a expandir a base genética e a melhorarem o valor nutricional dos mesmos.

Segundo Tavares *et al.* (2013) as espécies de amora silvestre (*R. brigitinus* e *R. vagabundus*), em comparação com uma cultivar de amora comercial, apresentaram capacidade antioxidante superior e um elevado potencial neuroprotetor. Este efeito protetor não foi verificado no caso da amora comercial, esta diferença poderá estar associada a uma composição em polifenóis superior nas espécies silvestres. Desta forma as espécies silvestres apresentam-se como uma fonte rica em fitoquímicos que podem ser explorados com fins nutricionais, nutracêuticos ou farmacêuticos.

Para além do crescente interesse dos consumidores por alimentos mais saudáveis e das evidências científicas que apontam as espécies de amoras silvestres como superiores às variedades comerciais em termos de possíveis efeitos para a saúde, as espécies silvestres poder-se-ão revelar agronomicamente mais sustentáveis. Estas espécies encontram-se adaptadas às condições edafo-climáticas de Portugal e ainda a condições de baixos *inputs*, características que poderão revelar-se uma vantagem numa agricultura sustentável de futuro (Oliveira *et al.*, 2012).

2.2.1.5-Importância e produção de amora silvestre no Mundo

Segundo Strik *et al.* (2008) a amora silvestre teve uma contribuição significativa para a produção mundial, embora os dados exatos sejam difíceis de obter, estimam-se que no

ano de 2005 foram colhidos no Equador 3 600 hectares de amora silvestre (*R. glaucus* Benth), 2 400 hectares na Roménia (*R. armeniacus* Focke e *R. laciniatus* Willd), 2 000 hectares no Chile (derivados da introdução de *R. ulmifolius* Schott) tendo este país exportado 10 670 toneladas de frutas processadas (55 a 65% da fruta colhida foi de espécies silvestres introduzidas), uma pequena área de tamanho desconhecido no México, e 100 hectares de *R. glaucus* plantados na Venezuela. Os cerca de 8 000 hectares de amoras silvestres colhidas em 2005, correspondentes a aproximadamente 30% da área total (28 035 ha) de amora no mundo, tiveram uma produção total de 13 460 toneladas, aproximadamente 10% da produção total de amora (153 752 ton). Em algumas regiões, como o Noroeste do Pacífico, a colheita de amoras silvestres, mesmo que para uso pessoal, condiciona as vendas de frutas cultivadas comercialmente. A colheita de amoras silvestres na Flórida é frequente, no entanto, tem várias limitações, incluindo o tamanho do fruto (comparativamente mais pequeno), a falta de uniformidade, baixo rendimento, e maturação tardia (Andersen e Crocker, 2001).

2.2.2-Biologia da planta

2.2.2.1-Ciclo vegetativo

No caso da amora silvestre, as sementes têm um revestimento duro e podem permanecer dormentes por um extenso período. Uma vez germinadas, crescem e estabelecem-se, a sua expansão é quase inteiramente devido ao crescimento vegetativo dos lançamentos ou resultado da disseminação feita pelos animais através das suas fezes. Ao longo do tempo uma única planta pode cobrir uma vasta área. As plantas podem viver até vinte cinco anos ou mais (DiTomaso, 2002).

O sistema radicular e a toíça da amora são perenes, enquanto os seus lançamentos são bienais. Na Primavera, os novos lançamentos vegetativos emergem dos gomos da toíça ou da raiz (Moore e Skirvin, 1990) e crescem vigorosamente em comprimento, desenvolvem-se os gomos nas axilas das folhas. Estes lançamentos exibem uma enorme dominância apical uma vez que apenas alguns lançamentos se desenvolvem a partir das axilas das folhas. A ramificação lateral é tipicamente promovida pela remoção da ponta do lançamento ou pela flexão da parte terminal do lançamento original (Takeda *et al.*, 2002). Durante o primeiro ano estes lançamentos são denominados lançamentos do ano e usualmente não dão flor (Moore e Skirvin, 1990), os gomos axilares são claramente vegetativos uma vez que têm potencial para desenvolver lançamentos laterais secundários. No entanto no final do Verão ou início do Outono quando o crescimento da parte aérea da planta diminuir, um processo irreversível chamado “indução floral” ocorre nos gomos axilares (Takeda *et al.*, 2002).

Na Primavera do segundo ano, após um período de dormência (Moore e Skirvin, 1990) os lançamentos florescem, frutificam e morrem, e são denominados lançamentos de segundo ano. No caso da amora silvestre as pontas dos lançamentos do ano, ao estarem em contacto com o solo, formam raízes a partir dos nós, contribuindo para a expansão da planta (Moore e Skirvin, 1990; DiTomaso, 2002). Os lançamentos de segundo ano não crescem em comprimento, mas produzem laterais com poucas folhas e com uma inflorescência terminal (Moore e Skirvin, 1990).

As saliências na protoderme ou epiderme das amoras, a que nós chamamos “espinhos” variam na sua forma e tamanho e são chamadas corretamente de acúleos. O verdadeiro número de acúleos e pêlos que se desenvolve sobre os lançamentos, é influenciado pela luz, sendo que as plantas que crescem num ambiente mais luminoso têm maior densidade de acúleos, que as que crescem num ambiente onde recebem luz indiretamente (Moore e Skirvin, 1990). As espécies silvestres tendem a apresentar uma densidade de acúleos elevada.

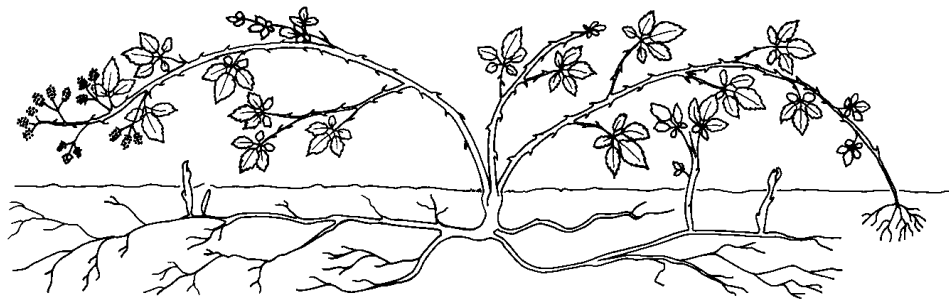


Figura 1-Crescimento vegetativo da amora silvestre a partir da coroa central. Nota: Imagem retirada de DiTomaso, (2002).

2.2.2.2-Ciclo reprodutivo

Após o abrolhamento, emergem pequenas ramificações folhosas (laterais) que usualmente terminam numa inflorescência. O número de flores por inflorescência varia muito com a espécie. Algumas espécies produzem predominantemente flores solitárias, mas a maioria produz conjuntos que variam entre 3 a 75 flores (Moore e Skirvin, 1990).

O processo de floração na amora é controlado e influenciado por um grande número de fatores, tanto externos como internos (Moore e Skirvin, 1990).

As inflorescências das várias espécies de amoras variam muito quanto à forma e à estrutura. Muitas espécies produzem inflorescências do tipo corimboso ou racemoso, sendo que algumas amoras prostradas produzem inflorescências do tipo cimoso, similar às framboesas (Moore e Skirvin, 1990). As flores são geralmente polinizadas por abelhas e zangões, existindo também cultivares autoférteis, sendo a frutificação maior aquando de

polinização cruzada (DiTomaso, 2002). Algumas espécies silvestres são funcionalmente dióicas (Moore e Skirvin, 1990).

O fruto é um agregado de drupéolas que se encontram unidas a um recetáculo comum. Cada drupéola contém uma única semente dura (Moore e Skirvin, 1990; Oliveira, 2006).

2.2.2.3-Indução, diferenciação floral

Sob zonas de clima temperado as condições de crescimento das amoras de frutificação bienal têm um limite bem definido de dormência sazonal (Takeda *et al.*, 2002). A dormência é a suspensão temporária visível do crescimento e compreende três processos fisiológicos: ecodormência; paradormência endodormência. A ecodormência é controlada por fatores externos aos órgãos em dormência tais como baixas temperaturas e stresse hídrico. A paradormência é controlada no interior da planta, mas externamente ao órgão dormente (gomo). Por exemplo o crescimento do gomo pode ser suprimido pela dominância apical e também pelas folhas adjacentes. A endodormência é controlada a partir do interior do próprio gomo e requer uma quantidade específica de frio de modo a remover essa condição. Após a sua formação, durante o primeiro Verão, o gomo entra num período de paradormência devido aos efeitos inibidores das folhas adjacentes e da dominância apical. Durante o Outono, o gomo entra progressivamente na endodormência (White *et al.*, 1999), como resultado do fotoperíodo mais curto e baixa moderada da temperatura. Durante este período, o alongamento dos entrenós e a expansão de catafilos e folhas verdadeiras geralmente são inibidos, mas o primórdio apical continua a mudar a sua complexidade morfológica. A planta sai desta fase após completar as horas de frio, esta fase nas amoras parece estar completa em Janeiro, após a qual o crescimento pode ser induzido com temperaturas elevadas. No entanto o relacionamento fisiológico entre a endodormência e o desenvolvimento do gomo vegetativo não está bem compreendido uma vez que a iniciação do gomo floral pode ocorrer antes da fase de endodormência e o desenvolvimento do gomo pode continuar durante todo o período de repouso com um aumento de complexidade dos órgãos florais dentro dos gomos dormentes de algumas espécies (Takeda *et al.*, 2002). Contudo as plantas que completam a sua dormência, rapidamente crescem e produzem elevados rendimentos no menor tempo possível (Dale *et al.*, 2003).

Muitas plantas de zonas temperadas requerem um período de temperaturas baixas durante a dormência para crescer vegetativamente, atingir um abrolhamento uniforme e produzir flores na Primavera. O número de horas necessárias para preencher as necessidades em frio varia com o tipo de espécie ou cultivar, podendo ir de 200-400 horas (Warmund *et al.*, 2005) ou mesmo segundo Atkinson *et al.* (2004), entre 200-1100 horas.

Neste período são necessárias temperaturas abaixo dos 7 °C. Um número insuficiente de horas de frio no Inverno pode causar sintomas como: atraso no abrolhamento, aborto dos gomos (Carter e Clark, 2002), reduzida e irregular floração e redução da produção (Yazzeti e Clark, 2001), podendo também afetar a duração da época de frutificação (Takeda *et al.*, 2002).

As espécies de amoras com acúleos são mais resistentes ao frio que espécies inermes (Takeda *et al.*, 2002). Segundo Warmund *et al.* (1992) as feridas causadas por temperaturas baixas podem ser um fator limitativo na produção comercial de amora. Estas temperaturas podem também ter efeitos de vernalização no desenvolvimento do botão floral. As amoras são diferentes das framboesas, quer na altura em que entram em dormência, quer na intensidade de dormência atingida, sendo o crescimento vegetativo suscetível a diminuições de temperatura, ou a enraizamento de pontas dos lançamentos em contacto com o solo (Takeda *et al.*, 2002), além disso o crescimento por ser afetado pela posição e localização dos gomos nos lançamentos (Warmund e Krumme, 2005).

Como as amoras podem continuar a crescer no Outono (Takeda *et al.*, 2002) a desfoliação natural pode não ocorrer até ao final do Inverno, desta forma a desfoliação natural não é um indicador confiável do início das necessidades em frio (Warmund e Krumme, 2005).

A diferenciação floral do gomo é um programa específico de crescimento dirigido pela composição interna da planta e modificado pelo ambiente e outros fatores correlatados. A temperatura desempenha um papel importante na extensão da diferenciação dos gomos durante o Inverno. Na amora as épocas de diferenciação floral do gomo e abrolhamento são variáveis. Aparentemente nalgumas cultivares de amora, a exposição a temperaturas de vernalização não é necessária para a diferenciação dos órgãos florais (Takeda *et al.*, 2002).

A iniciação floral em amoras ocorre no início do Outono o que sugere que fotoperíodos mais curtos e temperaturas mais baixas são necessários para a floração. No caso de algumas cultivares comerciais a diferenciação do gomo floral claramente ocorre na ausência de baixas temperaturas (< 5 °C). É plausível que o tempo de iniciação floral esteja relacionado com o abrandamento do crescimento e a cessação da parte aérea no final da estação. A indução pelo frio na floração ou vernalização serve como um mecanismo adotado por algumas plantas perenes por forma a ocuparem certas zonas climáticas (Takeda *et al.*, 2002). Segundo Dale *et al.* (2010) a iniciação floral dos gomos em qualquer espécie de *Rubus* é controlada por três sistemas: interação temperatura x comprimento dos dias; números de horas de frio e por fim pela juvenilidade. A temperatura máxima na qual se determina a iniciação floral dos gomos pode variar de abaixo de 8 °C até acima de 15 °C sob dias curtos. A necessidade em horas de frio está dependente da juvenilidade e da interação temperatura x comprimento dos dias.

Em cultivares não remontantes a iniciação floral dos gomos pode ocorrer com temperaturas abaixo dos 12 °C sob condições de dias longos, enquanto a floração pode ser interrompida por tempo indefinido a temperaturas superiores a 18 °C, independentemente da condição de fotoperíodo (Sørenstebj e Heide, 2009). A introdução de plantas em câmaras de frio, antes de ocorrer a iniciação floral, quebra a dormência mas os laterais permanecem vegetativos (Dale *et al.*, 2003).

2.2.2.4-Exigências edafo-climáticas

O clima ótimo para o desenvolvimento das amoras pode ser tipificado como temperado marítimo, de Inverno ameno e Verão suave sem altas intensidades luminosas. A precipitação não deve ser excessiva durante a época de frutificação (Gonçalves, 2011).

O principal fator climático para a cultura da amora é o frio. As necessidades de frio são importantes para uma produção satisfatória, mas por outro lado as temperaturas não podem ser excessivamente baixas (abaixo de -23°C) por forma a não causar danos às plantas. As geadas tardias durante a primavera, em plantações de cultivares precoces, podem causar danos na produção (Moore e Skirvin, 1990).

Em termos edáficos a drenagem de solo é muito importante. Enquanto a direção do declive não é um fator crítico para a seleção do local, esta pode afetar o tempo de floração e frutificação. As áreas com declive virado a sul têm uma leve precocidade em relação às áreas com declive virado a norte. As amoras crescem e produzem satisfatoriamente numa vasta gama de tipos de solo, de arenosos a franco-argilosos, desde que providos de boa drenagem. Solos com subcamadas impermeáveis ou lençóis freáticos superficiais dificultam o desenvolvimento das raízes. Um solo franco-arenoso profundo, mediantemente fértil com elevado teor em matéria orgânica, de fácil mobilização, boa retenção de água mas bem drenados, apresenta as características ideais para a produção de amoras. As amoras toleram uma vasta gama de pH do solo, crescendo satisfatoriamente num intervalo de 4,5 a 7,5, sendo considerado o ideal entre 6,0 a 6,5 (Moore e Skirvin, 1990).

3. Material e Métodos

3.1-Localização dos ensaios

Três dos ensaios realizaram-se na Herdade Experimental da Fataca (HEF), localizada no concelho de Odemira, que se encontra a uma latitude e longitude respetivamente de 37°30'N e 8°45'O e que dista 4 km do Oceano Atlântico, estando a uma altitude de 106 m. A HEF está incluída no perímetro do Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina. A caracterização da qualidade do fruto realizou-se nos laboratórios da Unidade Estratégica de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal (UESAFSV), Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), situado na Quinta do Marquês em Oeiras. O ensaio relativo à espécie *R. ulmifolius* realizou-se em dois locais distintos, sendo um deles a HEF e o outro a Quinta do Arripiado de Baixo, localizada no concelho de Chamusca, que se encontra a uma latitude e longitude respetivamente de 39°27'N e 8°23'O, estando a uma altitude de 37 m. A caracterização fitoquímica das espécies realizou-se nos laboratórios do Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB) da Universidade Nova de Lisboa, na Quinta do Marquês em Oeiras. A caracterização citogenética da espécie *Rubus ulmifolius* realizou-se nos laboratórios da UESAFSV com plantas multiplicadas nas estufas de vidro, ambos no INIAV.

3.2-Material Vegetal

No primeiro ensaio foram utilizadas cinco espécies silvestres de *Rubus*: *R. vigoii*; *R. radula*; *R. henriquesii*; *R. sampaioanus* e *R. brigantinus*. No segundo ensaio foi utilizada uma única espécie *R. vigoii*. No ensaio de atarraque foram utilizadas duas espécies: *R. radula* e *R. henriquesii*. Na caracterização da qualidade do fruto foram utilizadas todas as espécies dos três primeiros ensaios. No último ensaio foram utilizadas três variedades da espécie *R. ulmifolius* que se encontravam em estado selvagem. Na caracterização fitoquímica foram utilizadas todas as seis espécies. Na caracterização citogenética foram utilizados ápices radiculares de uma das variedades da espécie *R. ulmifolius* que apresentava características do fruto totalmente distintas (forma e maior tamanho).

O material vegetal utilizado nos ensaios foi identificado pelo Professor Carlos Aguiar, da Escola Superior Agrária de Bragança e pelo botânico Doutor Jorge Capelo da Unidade Estratégica de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal / INIAV.

3.2.1-*Rubus vigo*

Esta espécie aparece em clareiras e orlas de pinhais, carvalhos, terrenos marginais de jardins; no geral em solos não muito húmidos, pedregosos e siliciosos, mas também sobre calcário. Pode ser encontrada nos Sistemas montanhosos do Norte peninsular (Monasterio-Huelin, 1988). Em lugares sombreados, a página inferior das folhas pode ser glabra ou pouco tomentosa. O aspeto da inflorescência também é variável, umas vezes com pedicelos florais curtos, outras vezes mais longos (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.2-*Rubus radula*

A espécie *R. radula* aparece em clareiras e orlas de pinhais e carvalhais; em solo silicioso; 1000-1700m. Pode ser encontrada no Oeste e Centro da Europa: desde a Península Ibérica e Grã-Bretanha até à Península Escandinava, Polónia e Roménia. Oeste da Cordilheira Cantábrica, Montes de León, Serra de Montemuro (Douro Litoral), Sistema Central e Norte do Sistema Ibérico. Na Península Ibérica, a espécie mais próxima é a *R. genevieri* e com ela terá sido confundida frequentemente (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.3-*Rubus henriquesii*

Esta espécie aparece em clareiras e orlas de pinheiros, faias, carvalhos, castanheiros, urze, giesta, bordas de riachos e valas, em lugares mais ou menos ensolarados; geralmente em solo silicioso. Pode ser encontrada nas Montanhas do Norte de Portugal, Montes de León, Cordilheira Cantábrica, Serras Alavesas, Norte do Sistema Ibérico, Oeste dos Pirenéus, Serra da Estrela e Oeste do Sistema Central (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.4-*Rubus sampaioanus*

Esta espécie aparece em clareiras e orlas de bosques, charnecas, bordas de caminhos, principalmente em solo silicioso, embora também sobre calcários. Pode ser encontrada no Norte de Portugal, Galiza e Oeste da Cornisa Cantábrica. Apresenta turiões suberectos ou arqueados, em geral pelosos, glândulas estipitadas, com acúleos homogéneos. Eixo das inflorescências sem glândulas estipitadas. Pétalas brancas ou de um rosa pálido (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.5-*Rubus brigantinus*

A espécie *R. brigantinus* aparece junto a limites de terrenos agrícolas, bordas de caminhos, clareiras e margens de florestas com carvalhos, pinheiros e faias; expostas ao sol e solo rico em sílica; 550-1200m. Encontra-se a Noroeste de Portugal; Serra de Montesinho,

Lamego (Trás-os-Montes), Trancoso (Beira Alta), Serra da Gardunha (Beira Baixa), Velilla del Rio Carrión (Palencia) e nos Condemios (Guadalajara). Apresenta acúleos heterogêneos fortes, e em geral curvos e largos na base. Folíolos sem pelos estrelados e pétalas brancas ou rosadas (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.6-*Rubus ulmifolius*

A espécie *R. ulmifolius* aparece em clareiras e orlas de bosques (azinheiras, pinheiros, carvalhos e faias) bordas de caminho, limites de linhas de água, barrancos; em solo mais ou menos húmido, tanto silicioso quanto calcário; preferencialmente em zonas mais ou menos quentes e secas, a não demasiada altitude; 0-1700m. Pode ser encontrada a Oeste da Europa, desde a Península Ibérica e Ilhas Britânicas até ao Sul da Holanda e Sudoeste da Alemanha, Itália, Península Balcânica, ilhas do Mediterrâneo, Noroeste de África e Macaronésia (Açores, Canárias e Madeira); foi introduzida na Austrália, Norte e Sul da América e África do Sul (Monasterio-Huelin, 1988). Provavelmente foi a progenitora de várias espécies apomíticas Europeias, pela sua extensa distribuição na Europa (Heslop-Harrison, 1953).

Espécie extremamente polimórfica na qual estão descritos numerosos táxones que se diferenciam na forma do folíolo terminal, pela cor das pétalas, pela presença ou não de pelos simples no eixo floral. Tanta variabilidade é devida às condições ambientais e à capacidade desta espécie em gerar híbridos pouco estáveis (Monasterio-Huelin, 1988). Apresenta turiões suberectos-arqueados, glabros ou pelosos, sem glândulas estipitadas, com acúleos homogêneos e em geral fortes. Folíolos sem pelos. Eixo das inflorescências sem glândulas estipitadas. Pétalas brancas ou rosadas (Monasterio-Huelin, 1988).

3.2.7-Local de colheita do material vegetal

O material vegetal utilizado no ensaio de caracterização agronómica (Quadro 1) foi colhido no dia 13 de Setembro de 2007, pelos coletores: Professor Carlos Aguiar da Escola Superior Agrária de Bragança, pela Doutora Cláudia Santos e pela Doutora Lucélia Tavares ambas do ITQB, sendo posteriormente multiplicado na HEF.

Quadro 1-Coordenadas dos locais de colheita do material vegetal

Espécie	Norte	Oeste
<i>Rubus vigo</i>	41° 44,574'	6° 51,766'
<i>Rubus radula</i>	41° 54,382'	6° 46,295'
<i>Rubus henriquesii</i>	41° 54,332'	6° 46,554'
<i>Rubus sampaioanus</i>	41° 44,640'	6° 51,033'
<i>Rubus brigantinus</i>	41° 44,630'	6° 51,052'
<i>Rubus ulmifolius</i>	39°27',000	8°23',000

3.3-Delineamento Experimental

3.3.1-Ensaio de caracterização agronómica

As plantas das cinco espécies foram colocadas em vasos de polietileno com capacidade de 20 litros e substrato composto por fibra de coco, casca de pinheiro e perlite na proporção de 3:2:1 (v/v) respetivamente e foram dispostas em linhas separadas e paralelas (Figura 3) entre si. As plantas foram obtidas por multiplicação vegetativa (mergulhia de ponta) no Outono de 2010 e plantadas na Primavera de 2011. Os vasos estavam espaçados a 1,4 metros na linha e a 1,6 metros na entrelinha. Estes vasos foram colocados sobre uma tela branca agrícola, de forma a não estarem em contacto permanente com o solo (Figura 3). No Outono de 2011 foi realizada uma poda de formação, de forma a eliminar os lançamentos secundários, abaixo do primeiro arame. Acima do primeiro arame as plantas foram abertas para lançamentos secundários e posteriormente para terciários, até atingirem o último arame. Na Primavera de 2012 foram realizadas podas de formação nos turiões, com eliminação dos lançamentos secundários da base e corte após ter atingido o último arame.

O sistema de condução utilizado no ensaio das espécies em cultura foi o “V” modificado (Figura 3). O suporte foi formado por prumos de madeira tratada, colocados na vertical, aos quais foram fixados três barras de ferro na horizontal. Cada barra corresponde a um nível de arame. O primeiro arame situava a $\pm 0,4$ m de altura do solo, o segundo a $\pm 1,0$ m e o último a $\pm 1,6$ m. Este sistema de condução permitiu fazer uma separação dos lançamentos, ficando de um dos lados os (turiões) e no outro lado os lançamentos que produziram.

Foram utilizados túneis do tipo espanhol (Figura 2) com orientação Norte-Sul, sem controlo de temperatura e com as seguintes dimensões: 20 m de comprimentos, 6,5 m de largura e 3 m de altura (área coberta de 130 m²). Os túneis tinham cobertura de rede de sombra com 30 % de perda de radiação solar disponível.

O sistema de fertirrega (Figura 5) permitiu colocar ao dispor da planta todo o tipo de nutrientes ao mesmo tempo que se realizava uma operação de rega. Foram utilizados adubos de preferência muito solúveis por forma a não formar precipitado nos depósitos e ao longo da rede de distribuição. A água utilizada para a rega era proveniente da barragem de Santa Clara, localizada no Rio Mira, e estava armazenada na charca da HEF. O controlo da fertirrega no ensaio foi efetuado por um programador do tipo AKBAR versão 2C99 que disponibilizou todos os nutrientes inerentes às necessidades das plantas, assim como, garantiu o controlo do pH e condutividade elétrica (alterada e regulada ao longo de todo o ciclo cultural) seguindo os padrões de uma produção comercial. Cada vaso dispôs de dois gotejadores, cada um com débito de 4 L/h com frequência de quatro regas por dia, cada uma com duração de 15 minutos. Durante os ensaios foi necessário mudar a posição dos gotejadores dentro do vaso, dado que com o passar do tempo a água foi abrindo galerias no substrato e escorrendo para o solo, acabando por ficar seco o substrato.

3.3.2-Ensaio do efeito do frio na espécie *Rubus vigoi*

Este ensaio foi dividido em duas modalidades *R. vigoi* s/frio e *R. vigoi* c/frio. As plantas da modalidade *R. vigoi* c/frio foram colocadas em câmara frigorífica a uma temperatura de aproximadamente 0 °C no dia 23 de Janeiro do ano de 2012 e retiradas no dia 10 de Abril do mesmo ano, perfazendo aproximadamente um total de 1800 horas de frio. As plantas resultantes das duas modalidades foram dispostas nas mesmas condições do ensaio anterior (Figura 3).

3.3.3-Ensaio de atarraque de cachos

Este ensaio foi dividido em duas modalidades: 'c/atarraque' e 's/atarraque'. Foram marcadas por cada espécie três plantas controlo (não atarraque) e três plantas onde se efetuou a técnica. O atarraque dos cachos foi realizado após o vingamento dos frutos e consistiu na eliminação de todos os frutos do meio até à base do cacho. As plantas foram dispostas nas mesmas condições do primeiro ensaio.

3.3.4-Caracterização da qualidade do fruto

Para esta caracterização foram efetuadas três colheitas por cada espécie correspondentes a 5 %, 50 % e 95 % da produção.

A determinação dos Sólidos Solúveis Totais (SST) foi realizada apenas nos 5 % e 50 % da produção. A fruta foi separada em três repetições de campo, de cada amostra foram retirados aleatoriamente 20 frutos e posteriormente esmagados até formar uma pasta, sendo por fim os teores analisados com recurso a um refratômetro ATAGO (Figura 6).

A determinação da acidez titulável (A.T.) foi realizada pela equipa da Unidade Estratégica de Tecnologia e Segurança Alimentar no dia 3 de Setembro de 2012 e segundo o procedimento descrito na norma (NP EN 12147,1999), sendo que este se baseia na titulação potenciométrica em meio aquoso, com solução 0,1 N de hidróxido de sódio (NaOH). Pesou-se 25 g de polpa numa balança analítica, transferiu-se para balão volumétrico de 250 mL com um pouco de água destilada. De seguida, colocou-se o balão com a amostra em banho-maria a 50 °C, durante 10 min. e perfez-se o volume. Procedeu-se então à filtração (com filtro Whatman nº 4). Após filtração, mediu-se, com uma pipeta volumétrica, 25 mL de filtrado e procedeu-se à titulação desta solução com NaOH 0,1 N sob agitação magnética. Utilizou-se o potenciômetro e registou-se o volume (mL) de solução NaOH gasto até atingir pH 8,1. Efetuaram-se 3 repetições e os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 gramas de amora.

A determinação do pH foi efetuada pela mesma equipa e na mesma data da determinação da acidez titulável, em triplicado por potenciometria utilizando um eletrodo para sólidos (potenciômetro pH Meter Basic 20 Crison-Micro), sendo o equipamento previamente calibrado com base na temperatura ambiente e com soluções tampão pH=7 e pH=4.

Como fase conclusiva desta caracterização, foi realizada uma tentativa de exportação de *R. ulmifolius* no dia 28 de Agosto. As amoras foram colhidas em Paredes (coordenadas 41.9.53 N. 8.36.17 O) posteriormente foram embaladas segundo as normas comerciais e enviadas para um entreposto comercial no dia da colheita. O exportador colocou os frutos no mercado de Barcelona (Espanha) e Milão (Itália). Aquando da chegada o lote foi avaliado comercialmente.

3.3.5-Ensaio *Rubus ulmifolius*

Neste ensaio foi feito o acompanhamento de plantas que se encontravam em estado selvagem. Na HEF foi marcado um silvado e na Quinta do Arripiado de Baixo foram marcados dois silvados (Figura 4). Este ensaio baseou-se na caracterização das variações na forma e tamanho do fruto.

3.3.6-Observação de pragas e doenças

As observações de pragas e doenças foram realizadas semanalmente e tiveram início a 10 de Abril de 2012 e termo a 3 de Outubro do mesmo ano.

3.3.7-Caracterização fitoquímica

O material utilizado na caracterização fitoquímica foi colhido e congelado a -20 °C.

Para a extração dos compostos fitoquímicos do material vegetal foi efetuada uma extração hidroetanólica. O material vegetal foi previamente descongelado e esmagado com recurso a um almofariz; pesou-se aproximadamente 1 grama de cada amostra e adicionou-se uma solução de água-etanol (1:1), numa razão de 6 mL/g em peso fresco e deixou-se em agitação, no escuro, por 30 min. De seguida, centrifugou-se o homogenado durante 15 min a 3750 g e filtrou-se o sobrenadante, com o auxílio de filtros celulósicos, guardando-se o extrato obtido a -20 °C.

O conteúdo em compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado segundo o método de Folin-Ciocalteu, tendo como base o uso do reagente com o mesmo nome e de ácido gálico como substância de referência. A 235 µL de água destilada foram adicionados 5 µL de amostra e 15 µL de reagente de Folin-Ciocalteu, sendo os reagentes bem misturados. Após cerca de 5 min de espera, foram adicionados 45 µL de Na₂CO₃ (solução saturada) e a solução foi novamente bem misturada. Incubou-se as amostras a 40 °C durante 30 min e foi medida a absorvência da mistura no espectrofotómetro de placas a 765 nm. O conteúdo em fenóis totais foi padronizado para a concentração de ácido gálico através da determinação de uma reta de calibração para este mesmo composto, e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico EAG/g de peso seco. Na conversão dos valores em peso fresco para peso seco foram utilizados os valores em percentagem de matéria seca para cada espécie, obtidos na caracterização da qualidade do fruto.

A determinação da capacidade antioxidante para o radical peróxido foi efetuada através do método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). Este método baseia-se na capacidade protetora dos polifenóis contra a degradação da fluoresceína pelo radical peróxido. A reação consistiu na adição de 25 µL de extrato ou substância padrão a 150 µL de fluoresceína com uma concentração inicial de 4×10^{-3} mM e posteriormente de 25 µL de 153mM AAPH (*2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride*) (gerador de radicais). Todas as soluções foram preparadas em PBS (*phosphate saline buffer*). Foram efetuadas medições da fluorescência da mistura a cada minuto por um período total de 30 min, com um comprimento de onda de excitação de 480 nm e de emissão de 528 nm, com o leitor de fluorescência de placas (FLx600™, Biotek). Como substância de referência foi utilizado o (\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), com concentrações entre 0 e 50 µM. Os valores finais de atividade antioxidante foram calculados com uma equação de regressão entre a concentração de Trolox e a área sob a curva obtida, sendo o resultado final expresso em µmol de equivalentes de Trolox (ET)/g peso seco.

3.3.8-Caraterização citogenética de uma variedade da espécie *Rubus ulmifolius*

Alguns lançamentos do ano (turiões) e lançamentos de dois anos foram destacados de um dos silvados da Quinta do Arripiado de Baixo no dia 13 de Julho de 2012. Posteriormente foi feito um *voucher* e entregue no antigo Herbário da Estação Florestal Nacional. O restante material vegetal foi levado para as estufas de vidro no INIAV e foi colocado em caixas de hidroponia (89 cm x 20 cm x 22 cm) com o fundo preenchido com argila expandida (Leca® 10/20) e o restante volume com substrato constituído por três partes de fibra de coco, duas partes de casca de pinheiro e uma parte de perlite (v/v), com rega gota-a-gota.

Os ápices radiculares foram colhidos e pré-tratados com uma solução aquosa saturada de α -bromonaftaleno durante 2_{1/2} a 3 horas a uma temperatura de 24 °C \pm 4 °C. A fixação foi feita com FAA 1:1:18 (formaldeído, ácido acético etanol 70º) durante 24 horas. Após a fixação as raízes foram colocadas em etanol 70º para posterior armazenamento no frigorífico a 4 °C. O pré-tratamento permite um encurtamento dos cromossomas e a fixação permite interromper a atividade celular, preservando a integridade da estrutura cromossómica. Depois da retirada do material do frigorífico, os ápices radiculares foram hidrolisados com HCl a 1 N a 60 °C durante 11 min e 30 segundos, sendo posteriormente lavados com álcool a 70 % durante 2 minutos. O ápice radicular foi retirado para a lâmina e posteriormente levado à lupa. Com o auxílio de um par de pinças finas foi separado em pequenas porções. Após todo este processo foram colocadas sobre o material a observar 2 gotas de Carmin Acético. Com recurso a duas pinças finas colocou-se suavemente a lamela, de seguida, colocou-se papel absorvente sobre a lâmina e prensou-se com o polegar, até obtermos uma fina camada de células.

3.4-Tratamento dos dados

Para cada espécie ou fator foi efetuada uma análise de variância tendo sido realizado um teste de comparação múltipla das médias de Tukey para ($\alpha=0,05$) utilizando o software Statistix 9 (Analytical Software, Tallahasee, Florida).

3.5-Registos e Observações

3.5.1-Ensaio de caracterização agronómica

De forma a caracterizar os lançamentos de segundo ano (primários, secundários e terciários), em relação ao seu vigor e produção simultânea de fruta, foram registados os seguintes parâmetros biométricos no início do ensaio:

- Número de lançamentos;
- Diâmetro (2 cm da base);

- Comprimento dos lançamentos;
- Número de nós;

e a percentagem de abrolhamento no decorrer do ensaio.

A percentagem de abrolhamento foi efetuada semanalmente, a data correspondente à percentagem de abrolhamento final foi 12 de Junho de 2012, exceto na espécie *R. vigo* que foi no dia 15 de Maio do mesmo ano. As datas dos registos e observações deste ensaio foram as mesmas utilizadas para todos os outros.

Para o acompanhamento dos estados fenológicos foram marcados 3 lançamentos secundários por espécie, e registados os estados semanalmente de 8 de Maio a 28 de Agosto, em todos os ensaios. Foram considerados quatro estados fenológicos: 1-*Bouquet* com 3 folhas; 2-Botão floral verde, fechado; 3-Fruto vingado e 4-Fruto maduro (início da colheita). De forma a caracterizar as diferenças entre espécies foi registada a duração de cada estado fenológico.

Na medição de todos os diâmetros foi utilizada uma craveira digital 'Mitutoyo Cd-15DC' e nos pesos uma balança digital 'Mettler PM 4000' de precisão 0,01 g.

Na caracterização das inflorescências foram registados os seguintes parâmetros biométricos, no decorrer:

- Padrão de maturação das inflorescências;
- Datas de início (5 %), meio (50 %) e fim (95 %) da produção e duração do período de colheita; foram adotadas de Finn *et al.* (2010).
- Produção comercial, percentagem de refugo, e peso do fruto e no final do ensaio;
- Número de inflorescências por lançamento;
- Comprimento e diâmetro do ráquis da inflorescência, número de frutos colhidos e não colhidos.

3.5.2-Ensaio do efeito do frio na espécie *Rubus vigo*

Neste ensaio as observações e parâmetros observados foram os mesmos efetuados no ensaio anterior, exceto o número de lançamentos, diâmetro, comprimento e números de nós, a ordem de maturação dos frutos e peso fresco do fruto.

3.5.3-Ensaio de atarraque de cachos

Neste ensaio foram apenas analisados a produção comercial, percentagem de refugo, percentagem de matéria seca e peso do fruto.

3.5.4-Characterização da qualidade do fruto

De forma a analisar a qualidade do fruto foram analisados parâmetros físico-químicos: sólidos solúveis totais (SST), a acidez titulável (A.T.) e o pH, e parâmetros biométricos: razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal, obtida através da medição de 10 frutos de cada espécie efetuada nos 50 % da produção e percentagem de matéria seca obtida pela média de 20 frutos de cada espécie e efetuada nos 50 % da produção. Os pesos secos, para a obtenção do valor em matéria seca, foram registados após passagem por estufa de secagem a 70 °C durante 48 horas (Figura 7).

3.5.5-Ensaio *Rubus ulmifolius*

Por esta espécie apresentar variabilidade na forma e tamanho do fruto, foram analisados o peso do fruto, e a razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal, o teor em SST nos 50 % de produção e a percentagem de matéria seca, de acordo com as diferentes localizações do ensaio. A colheita nos silvados foi efetuada semanalmente, teve início a 30 de Julho de 2012 e terminou a 03 de Setembro do mesmo ano.

3.5.6-Characterização citogenética de uma variedade da espécie *R. ulmifolius*

Os cromossomas foram observados e contados usando um microscópio ótico (Olympus BX41) com ampliação de 60 x e 100 x. Foram selecionadas as células que se encontravam em interfase, e a aquisição de imagem realizada com o equipamento ProgRes® CapturePro 2.8 - JENOPTIK Optical Systems e capturadas com o programa ProgRes® Systeme - JENOPTIK Optical Systems.



Figura 2-Túneis da Herdade Experimental da Fataca, onde foram instalados alguns ensaios.



Figura 3-Disposição das plantas nos vasos e nas linhas, pormenor do sistema de condução.



Figura 4-Silvados utilizados no ensaio, Quinta do Arripiado de Baixo.



Figura 5-Sistema de fertirrega utilizado na Herdade Experimental da Fataca.

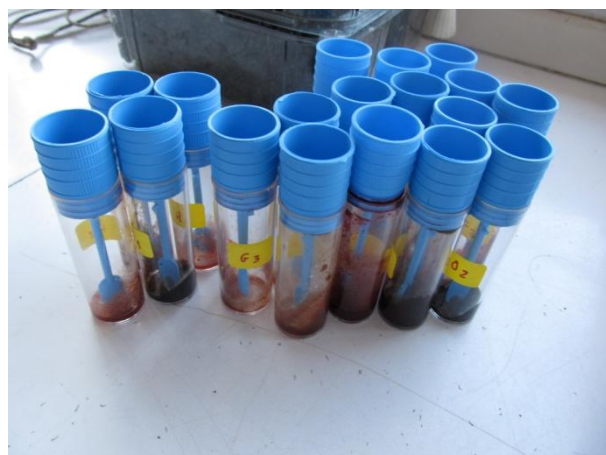


Figura 6-Método de determinação dos sólidos solúveis totais.



Figura 7-Preparação do material para a determinação da percentagem de matéria seca, após terem vindo da estufa.

4.Resultados e Discussão

4.1-Ensaio de caracterização agronómica

4.1.1-Número, diâmetro, comprimento e número de nós por lançamento

O número de lançamentos primários (Quadro 2) foi superior na *R. radula* e *R. henriquesii*, com 4,7 e 4,3 lançamentos primários por planta, respectivamente. O número de lançamentos secundários e de terciários na *R. vigo* e *R. sampaioanus* foi superior, com 10,7 e 10,2 secundários e 30,5 e 29,8 terciários por planta, respectivamente. Segundo Cortell e Strik (1997), os lançamentos da porção basal (primários) dão origem a frutos com maior peso, destacando-se as espécies *R. radula* e *R. henriquesii*. O diâmetro dos lançamentos apenas foi significativamente diferente nos lançamentos primários, sendo a *R. vigo* e *R. sampaioanus* as espécies que apresentaram lançamentos primários com diâmetros superiores, 15,4 e 17,7 mm, respectivamente. No comprimento dos lançamentos e número de nós não existiram diferenças significativas, refletindo o efeito da poda efetuada, homogênea e uniforme entre espécies.

As espécies com maior número de lançamentos primários apresentaram menos secundários e terciários, as com menor número de lançamentos primários apresentaram diâmetros superiores.

O crescimento vegetativo é resultado de vários fatores, considerando como mais influentes, o comportamento natural de cada espécie (componente genética) e o ambiente (componente ambiental). Para além disso o crescimento vegetativo refletiu a poda de Inverno realizada em 2011. Em amoras de produção bienal o número deixado de lançamentos é consequência da situação geral da planta (porte, vigor e estado sanitário), condiciona a produção do ano seguinte e o período de vida útil da mesma.

Comparando os valores registados com os obtidos por Gonçalves (2011) em amoras do tipo prostrado verifica-se que o número de primários nas espécies *R. radula* e *R. henriquesii* é muito superior às cultivares prostradas “Olallie”, “Silvan”, “Karaka Black” e “Kotata”. Os diâmetros dos lançamentos primários obtidos nas espécies *R. vigo* e *R. sampaioanus* foram também superiores, podendo-se afirmar que estas espécies apresentaram vigor vegetativo elevado comparativamente com as cultivares do tipo prostrado estudadas por Gonçalves (2011).

Quadro 2-Número de lançamentos primários, secundários e terciários, diâmetro, comprimento e número de nós dos mesmos.

Espécie	Primários				Secundários				Terciários			
	Nº de Lançamentos	Diâm. (mm)	Comp. (m)	Nº Nós por Lançamento	Nº de Lançamentos	Diâm. (mm)	Comp. (m)	Nº Nós por Lançamento	Nº de Lançamentos	Diâm. (mm)	Comp. (m)	Nº Nós por Lançamento
<i>R.vigoi</i>	2,0 bc	15,4 ab	1,23	15,8	10,7 a	6,6	0,97	12,5	30,5 a	4,2	0,76	11,0
<i>R.radula</i>	4,7 a	12,5 b	0,84	9,8	5,7 b	6,3	0,91	15,5	9,0 b	4,0	0,59	10,8
<i>R.henriquesii</i>	4,3 a	12,0 b	0,96	13,3	6,3 b	7,4	0,98	14,2	16,0 b	5,1	0,60	10,0
<i>R.sampaioanus</i>	1,5 c	17,7 a	1,08	16,5	10,2 a	7,0	0,89	13,5	29,8 a	5,4	0,66	10,8
<i>R.brigantinus</i>	3,7 ab	14,3 ab	0,92	16,8	7,5 ab	6,5	0,92	15,7	18,7 b	5,2	0,47	8,8
Média Geral	3,2	14,4	1,00	14,5	8,1	6,7	0,93	14,3	20,8	4,8	0,61	10,3
EPM	0,4	1,2	0,12	1,7	0,8	0,3	0,07	0,9	2,4	0,3	0,07	1,0
Nível de Significância	<0,000	0,020	N.S.	N.S.	<0,000	N.S.	N.S.	N.S.	<0,000	N.S.	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM- Erro padrão da média. N=6.

4.1.2-Abrolhamento

O abrolhamento dos gomos na última data de observação (ver material e métodos) apresentou diferenças significativas apenas nos lançamentos secundários e terciários (Quadro 3). Na *R. vigo*i verificou-se um abrolhamento nos secundários significativamente diferente em relação a todas as outras espécies com 68,3 % de abrolhamento final, registrando as restantes espécies percentagens 2 a 3 vezes menores. Nos lançamentos terciários a diferença entre espécies não foi tão significativa, sendo a *R. vigo*i e a *R. henriquesii* as que apresentaram percentagens finais de abrolhamento superiores a 50 %. Na *R. radula* o abrolhamento dos gomos dos lançamentos terciários foi significativamente inferior ao da *R. vigo*i.

As percentagens de abrolhamento obtidas por Gonçalves (2011) nas cultivares do tipo prostrado ‘Olallie’, ‘Silvan’, ‘Karaka Black’ e ‘Kotata’, no mesmo local de produção, são similares às registadas neste ensaio. Cortell e Strik (1997) observaram percentagens de abrolhamento inferiores às deste ensaio, com a cultivar de tipo prostrado ‘Marion’.

Quadro 3-Abrolhamento dos gomos (em percentagem) por lançamento primário, secundário e terciário nas cinco espécies.

Espécie	Primários	Secundários	Terciários
<i>R.vigo</i> i	85,4 ± 12,7	68,3 ± 6,6 a	58,8 ± 6,7 a
<i>R.radula</i>	81,9 ± 15,6	16,7 ± 8,1 b	24,9 ± 8,2 b
<i>R.henriquesii</i>	45,6 ± 18,0	12,0 ± 9,3 b	50,3 ± 9,5 ab
<i>R.sampaioanus</i>	39,1 ± 15,6	23,0 ± 8,1 b	34,1 ± 8,2 ab
<i>R.brigantinus</i>	53,0 ± 13,7	22,7 ± 6,6 b	31,8 ± 6,7 ab
Média Geral	63,1	32,2	40,5
Nível de Significância	N.S.	<0,000	0,026

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N=6 para *R. vigo*i *R. brigantinus*; N=4 para *R. radula* e *R. sampaioanus*; N=3 para *R. henriquesii*.

4.1.3-Fenologia

A duração de cada estado fenológico (Figura 8) variou entre espécies. A *R. radula* foi a que apresentou menor número de dias até à colheita (74). As espécies mais precoces foram a *R. henriquesii*, *R. radula* e a *R. brigantinus*, onde se verificou o estado *bouquet* de três folhas (estado 1) a 08 de Maio. A espécie com a entrada em produção mais tardia foi a *R. vigo* a 28 de Agosto que apresentou um período e 104 dias desde do *bouquet* com três folhas até à entrada em produção. Estas espécies em relação às cultivares de tipo prostrado estudadas por Cortell e Strik (1997); Finn *et al.* (2010) e Gonçalves (2011), apresentam uma entrada em produção muito tardia, prejudicando em muito a qualidade e quantidade de fruta colhida.

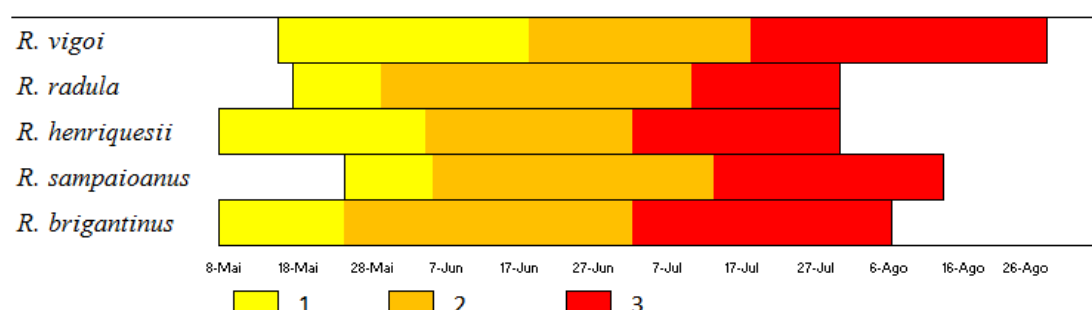


Figura 8-Duração dos estados fenológicos nas cinco espécies. 1-Bouquet com 3 folhas; 2-Botão floral verde, fechado; 3-Fruto vingado.

4.1.4-Número de inflorescências por lançamento, nas cinco espécies

Quadro 4-Número de inflorescências por lançamento primário, secundário e terciário para as cinco espécies

Espécie	Primário	Secundário	Terciário
<i>R. vigo</i>	0,0 ± 0,6	1,5 ± 0,7	0,3 ± 0,5 b
<i>R. radula</i>	1,8 ± 0,6	1,5 ± 0,6	0,0 ± 0,5 b
<i>R. henriquesii</i>	0,3 ± 0,6	1,3 ± 0,7	0,7 ± 0,5 ab
<i>R. sampaioanus</i>	1,3 ± 0,6	1,3 ± 0,6	2,5 ± 0,5 a
<i>R. brigantinus</i>	2,3 ± 0,5	1,3 ± 0,6	0,5 ± 0,5 b
Média Geral	1,2	1,4	0,8
Nível de Significância	NS	NS	0,012

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N=4 para *R. vigo*, *R. brigantinus*, *R. radula* e *R. sampaioanus*; N=3 para *R. henriquesii*.

O número de inflorescências por lançamento (Quadro 4) apenas apresentou diferenças significativas nos lançamentos terciários, registrando a *R. sampaioanus* o valor mais elevado de 2,5 inflorescências por lançamento terciário, não apresentando diferenças significativas com a *R. henriquesii*, que apresentou 0,7 inflorescências por lançamento terciário.

4.1.5- Caracterização da inflorescência

As espécies que registaram inflorescências maiores foram a *R. vigoí* e a *R. brigantinus* com 0,86 e 0,51 m, respectivamente, sendo a *R. vigoí* diferente da *R. radula*, *R. henriquesii* e *R. sampaioanus* (Quadro 5). O diâmetro do ráquis da inflorescência não apresentou diferenças significativas entre espécies. As espécies onde o número de frutos colhidos foi superior foram a *R. radula*, *R. brigantinus* e *R. henriquesii* com 54,0 e 60,3 e 32,8 frutos por inflorescência. A *R. brigantinus* foi a que registou maior número de frutos não colhidos com 32,0 frutos por inflorescência. Esta espécie apresentou inflorescências grandes com elevado número de frutos, enquanto a *R. vigoí* apesar de ter apresentado as inflorescências de maior comprimento, apenas frutificou na ponta, resultando num baixo número de frutos por inflorescência. Tanto o número de inflorescências como o número de frutos colhidos são superiores aos observados por Cortell e Strik (1997) na cultivar do tipo prostrado 'Marion'.

As duas espécies que apresentaram maior percentagem de frutos não colhidos (Quadro 5) foram a *R. vigoí* e a *R. sampaioanus* com 84,2 % e 73,5 % de frutos, respectivamente. Estas elevadas percentagens são reflexo da produção tardia (segunda semana de Agosto), facto que não permitiu completar o período produtivo.

A *R. henriquesii* mostrou também um bom perfil de frutificação, pela baixa percentagem de frutos não colhidos (5,5) e pela sua baixa razão frutos não colhidos/frutos colhidos (0,1).

Segundo Cortell e Strik (1997) a compensação para as baixas percentagens de abrolhamento pode ocorrer através do aumento do peso do fruto e do número destes por lateral em framboesas. Este efeito pode estar presente nas espécies *R. brigantinus* e *R. radula*, nas quais se verificou baixa percentagem de abrolhamento, ver Quadro 3, e posteriormente elevado número de frutos (Quadro 5).

Quadro 5-Comprimento e diâmetro das inflorescências, número de frutos colhidos e não colhidos, percentagem de frutos não colhidos e razão frutos não colhidos/frutos colhidos.

Espécie	Comprimento (m)	Diâmetro (mm)	Nº de Frutos			
			Colhidos	n Colhidos	% n C	Razão n C/C
<i>R. vigo</i>	0,86 a	5,2	5,5 b	25,7 ab	84,2 a	7,1 a
<i>R. radula</i>	0,45 b	4,5	54,0 a	10,5 ab	21,2 b	0,3 b
<i>R. henriquesii</i>	0,37 b	5,2	32,8 ab	2,3 b	5,5 b	0,1 b
<i>R. sampaioanus</i>	0,49 b	5,3	3,8 b	17,3 ab	73,5 a	2,3 b
<i>R. brigantinus</i>	0,51 ab	5,8	60,3 a	32,0 a	30,7 b	0,5 b
Média Geral	0,53	5,2	31,3	17,6	43,0	2,1
EPM	0,09	0,5	11,4	6,0	7,4	0,9
Nível de Significância	0,009	N.S.	0,003	0,013	<0,000	<0,000

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=4 para *R. vigo*, *R. radula*; N=6 para *R. sampaioanus*, *R. henriquesii*, *R. brigantinus*.

4.1.6-Padrão de maturação das inflorescências

Nos vários ramos marcados no topo dos lançamentos secundários das várias espécies, o padrão de maturação foi muito semelhante, exceto na *R. vigo* Anexo (I). Nesta espécie, os frutos terminais dos eixos secundários foram os últimos a amadurecer. Nas restantes espécies, o primeiro fruto a amadurecer foi o fruto terminal do eixo primário, ao qual se seguiram os frutos terminais dos eixos secundários amadurecendo os restantes de forma acrópeta. Estes resultados vão de encontro ao padrão descrito por Takeda (1987) em amoras do tipo semi-erecto, que afirma que a sequência de floração começa com a flor terminal do eixo primário, à qual se segue a flor terminal do eixo secundário num sentido acrópeta, e por Thompson *et al.* (2007) para amoras do subgénero *Rubus* L., afirmando que a flor terminal ou distal é sempre a primeira a abrir, seguida pelas flores terminais de eixos localizados na porção basal, as flores são abertas acropetamente dentro da inflorescência.

4.1.7-Duração do período de colheita

A espécie *R. vigo* foi a que apresentou menor número de dias em colheita (30 dias). Pelo contrário a *R. brigantinus* foi a que registou um período de colheita mais longo (43 dias), no entanto foi a que demorou menos dias a atingir o pico de colheita (14 dias). A *R. radula* e *R. henriquesii* foram as espécies que entraram em produção

mais cedo (31 Julho), enquanto a *R. vigo*i e *R. sampaioanus* foram as mais tardias (Quadro 6).

Nos estudos realizados por Oliveira *et al.* (2012) a introdução de algumas destas espécies em cultura protegida permitiram antecipar a produção em um mês. Este poderá ser o método que melhor resultará com estas espécies. Na produção ao ar livre dever-se-á optar pelas mais precoces.

Quadro 6-Números de dias até ao pico da colheita, datas de produção e número de dias em colheita para a cinco espécies

Espécie	Nº dias até pico Colheita	Datas de Produção			Nº dias em Colheita
		5%	50%	95%	
<i>R. vigo</i> i	22	28/Ago	19/Set	27/Set	30
<i>R. radula</i>	21	31/Jul	21/Ago	11/Set	42
<i>R. henriquesii</i>	21	31/Jul	21/Ago	11/Set	42
<i>R. sampaioanus</i>	29	21/Ago	19/Set	27/Set	37
<i>R. brigantinus</i>	14	07/Ago	21/Ago	19/Set	43

4.1.8-Produção

A produção total, comercial e percentagem de refugo (Quadro 7) foram iguais para todas as espécies. A *R. vigo*i produziu significativamente menos que todas as outras com a maior percentagem de refugo (77,3). A espécie que apresentou peso superior do fruto foi a *R. sampaioanus* com 2,1 g, sendo apenas significativamente diferente da *R. brigantinus* com 1,6 g.

Segundo Oliveira *et al.* (2012) algumas destas espécies sob condições de cultura protegida, mostraram melhores produções comerciais. A *R. radula* e *R. henriquesii* com 1818 g e 1353 g de produção comercial por planta, respectivamente. Relativamente à produção total não apresentaram diferenças significativas, sendo estes resultados o reflexo de muito menores percentagens de refugo (aproximadamente 2 %). Segundo Finn *et al.* (2010) existe uma propensão por parte deste tipo de amoras (prostradas) para a quebra dos lançamentos quando estes são puxados para o sistema de condução, levando a perdas de rendimento. Os lançamentos devem ser orientados suavemente logo após a colheita ou à medida que crescem. A cultivar Wild Treasure (tipo prostrado) estudada por Finn *et al.* (2010) apresentou pesos de 2,1 g por fruto, resultados semelhantes aos obtidos neste ensaio.

Quadro 7-Produção total e comercial em gramas percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas nas cinco espécies

Espécie	Produção (g/planta)		Refugo (%)	Peso fruto (g)
	Total	Comercial		
<i>R. vigoí</i>	150,5 ± 162,7 b	34,0 ± 98,8 b	77,3 ± 2,6 a	1,8 ± 0,1 ab
<i>R. radula</i>	1515, 8 ± 199,3 a	910,5 ± 121,1 a	39,5 ± 3,1 b	1,7 ± 0,1 ab
<i>R. henriquesii</i>	1543,3 ± 230,1 a	928,0 ± 139,8 a	40,3 ± 3,6 b	1,9 ± 0,1 ab
<i>R. sampaioanus</i>	1467,0 ± 199,3 a	844,5 ± 121,1 a	42,8 ± 3,1 b	2,1 ± 0,1 a
<i>R. brigantinus</i>	1232,0 ± 162,7 a	656,7 ± 98,8 a	48,7 ± 2,6 b	1,6 ± 0,1 b
Média Geral	1080,7	606,4	52,4	1,8
Nível de Significância	<0,000	<0,000	<0,000	0,018

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=4 *R. radula* e *R. sampaioanus*; N=6 para *R. vigoí*, *R. brigantinus*. N=3 para *R. henriquesii*.

4.2-Ensaio do efeito do frio na espécie *Rubus vigoi*

4.2.1-Abrolhamento

A percentagem de abrolhamento (Quadro 8) dos gomos na última data de observação (ver material e métodos) foi significativamente diferente apenas nos lançamentos terciários. As plantas que foram ao frio registaram maior percentagem de abrolhamento, 94,4 contra 58,8 (Figura 18 e 19).

Quadro 8-Percentagem de abrolhamento por lançamento primário, secundário e terciário na espécie *R. vigoi*.

Espécie	Primário	Secundário	Terciário
<i>R. vigoi</i>	85,4	68,3	58,8 b
<i>R. vigoi</i> + frio	72,5	84,0	94,4 a
Média Geral	79,0	76,2	76,6
EPM	11,7	8,3	6,0
Nível de Significância	N.S.	N.S.	0,002

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=6.

4.2.2-Fenologia

O frio causou um efeito de precocidade nas plantas e aumentou em quase uma semana (6 dias) o período de fruto vingado, sendo o total semelhante nas duas modalidades (Figura 9).

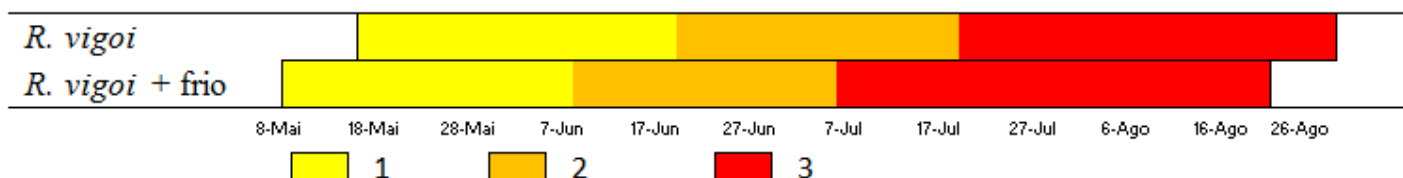


Figura 9-Duração dos estados fenológicos na *R. vigoi*. 1-Bouquet com 3 folhas; 2-Botão floral verde, fechado; 3-Fruto vingado.

4.2.3-Número de inflorescências por lançamento

O tratamento frio influenciou o número de inflorescências apenas nos lançamentos primários. As plantas que foram ao frio registaram 4,3 lançamentos por primário e a testemunha 0,1 (Quadro 9).

Quadro 9-Número de inflorescências por lançamento primário, secundário e terciário na espécie *R. vigo*.

Espécie	Primário	Secundário	Terciário
<i>R. vigo</i>	0,1 b	1,5	0,3
<i>R. vigo</i> + frio	4,3 a	4,8	1,8
Média Geral	2,1	2,4	0,4
EPM	1,0	1,2	0,9
Nível de Significância	0,025	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=4.

4.2.4- Caracterização da inflorescência

As plantas do tratamento frio apresentaram inflorescências mais pequenas (0,5 m contra 0,9 m), mas com diâmetros equivalentes às que não foram ao frio. Em relação aos frutos pôde-se constatar que apesar do frio diminuir a percentagem de frutos não colhidos de 84,2 para 66,0, o número de frutos colhidos não foi significativamente diferente. O número de frutos não colhidos foi significativamente superior nas plantas sem tratamento, 25,7 contra 10,8 (Quadro 10). Desta forma a diminuição da percentagem de frutos não colhidos é apenas consequência dos cachos serem mais pequenos e terem menos frutos.

Quadro 10-Comprimento e diâmetro das inflorescências, número de frutos colhidos, não colhidos e percentagem de não colhidos, na *R. vigo*.

Espécie	Comprimento (m)	Diâmetro (mm)	Frutos		
			Colhidos	N Colhidos	% N Colhidos
<i>R. vigo</i>	0,9 a	5,2	5,5	25,7 a	84,2 a
<i>R. vigo</i> + frio	0,5 b	4,8	6,2	10,8 b	66,0 b
Média Geral	0,7	5,0	5,8	18,3	75,1
EPM	0,1	0,3	1,7	2,6	4,6
Nível de Significância	0,017	N.S.	N.S.	0,002	0,018

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=4 para o comprimento e diâmetro; N=6 para o número de frutos.

4.2.5-Duração do período de colheita

A introdução de plantas no frio antecipou a entrada em produção e ao mesmo tempo prolongou o período de colheita em 7 dias (Quadro 11).

Quadro 11- Números de dias até ao pico da colheita, datas de produção e número de dias em colheita, espécie *R. vigoí*.

Espécie	Nº dias até pico Colheita	Datas de produção			Nº dias em Colheita
		5%	50%	95%	
<i>R. vigoí</i>	22	28/Ago	19/Set	27/Set	30
<i>R. vigoí</i> + frio	29	21/Ago	19/Set	27/Set	37

4.2.6-Produção

As produções, total e comercial (Quadro 12) foram significativamente superiores na modalidade frio com uma produção por planta de 1010,5 g contra 150,5 g e 360,8 g contra 34,0 g. A percentagem de refugo foi também significativamente inferior na modalidade frio. O tratamento frio melhorou significativamente o desempenho desta espécie.

Nos estudos efetuados por Oliveira *et al.* (2012) esta espécie não diferenciou flor, não produzindo fruta, apesar de ter apresentado percentagens de abrolhamento significativas e crescimento vegetativo muito elevado.

Segundo Atkinson *et al.* (2004) a submissão de plantas de morangueiro a frio artificial, após período de dormência, não só pode ter um impacto sobre o hábito do crescimento vegetativo da planta, como também pode influenciar a capacidade floral. Embora o número de flores por planta não seja influenciado pela temperatura de frio, a interação entre o vigor vegetativo e a produção de frutos, sugere que a frutificação é influenciada, resultando numa melhoria da qualidade dos frutos em relação ao tamanho e forma, bem como à duração do período de produção. O aumento da produção (Quadro 12) e do período de produção (Quadro 11) vão de acordo com esta afirmação e demonstram o efeito da modalidade frio neste ensaio.

Quadro 12- Produção total e comercial em gramas, percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas *R. vigo*

Espécie	Produção (g/planta)		Refugo (%)
	Total	Comercial	
<i>R. vigo</i>	150,5 b	34,0 b	77,3 a
<i>R. vigo</i> + frio	1010,5 a	360,8 a	64,1 b
Média Geral	580,6	197,4	70,8
EPM	45,8	20,8	2,8
Nível de Significância	<0,000	<0,000	0,006

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=6.

4.3-Ensaio de atarraque de cachos

4.3.1-Produção

Para a *R. radula* (Quadro 13) a técnica de atarraque não produziu diferenças significativas. No caso da espécie *R. henriquesii* (Quadro 14) a produção total e comercial apresentou diferenças significativas, o atarraque registou uma quebra de 1543,3 g para 554,3 g de produção total por planta e de 928,0 g para 330,3 g de produção comercial. Ainda nesta espécie, a técnica não apresentou diferenças nem na percentagem de refugo nem no peso do fruto.

Segundo Takeda (2002) reduzindo o número de lançamentos de segundo ano ou encurtando os laterais de fruta irá diminuir o rendimento, mas muitas vezes melhora a qualidade dos frutos.

Quadro 13-Produção total e comercial em gramas, percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas, ensaio atarraque na *R. radula*

Espécie	Produção (g/planta)		Refugo (%)	Peso fruto (g)
	Total	Comercial		
<i>R. radula</i>	1530,3	893,7	41,0	1,8
<i>R. radula</i> Monda	855,7	571,3	30,3	1,7
Média Geral	1232,9	732,5	35,7	1,8
EPM	213,47	101,28	4,9	0,1
Nível de Significância	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=3 plantas.

Quadro 14-Produção total e comercial em gramas percentagem de refugo e peso fresco do fruto em gramas ensaio atarraque na *R. henriquesii*

Espécie	Produção (g/planta)		Refugo (%)	Peso fruto (g)
	Total	Comercial		
<i>R. henriquesii</i>	1543,3 a	928, 0 a	40,3	1,9
<i>R. henriquesii</i> Monda	554,3 b	330,3 b	39,0	1,7
Média Geral	1048,8	1232,9	39,7	1,7
EPM	226,6	140,2	3,1	0,1
Nível de Significância	0,037	0,039	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=3 plantas.

4.4.Caracterização da qualidade do fruto

4.4.1-Sólidos solúveis totais (SST) e percentagem de matéria seca

A espécie que apresentou maior teor em sólidos solúveis totais (Figura 10), no início da produção (5 %), foi a *R. radula* modalidade atarraque com 13,5 g/100 g peso fresco, não apresentando diferenças significativas das restantes espécies, à exceção da *R. vigo*i modalidade frio e *R. sampaioanus*, que apresentaram diferenças significativas, ambas com 11,2 g/100 g peso fresco. Nos 50 % da produção a *R. henriquesii* foi a que apresentou maior teor em SST com 13,0 g/100 g peso fresco. As espécies com menores teores foram a *R. sampaioanus* e *R. vigo*i modalidade frio com 9,8 e 9,7 g/100 g peso fresco, respectivamente.

Os teores em sólidos solúveis totais obtidos foram similares aos registados nalgumas destas espécies por Oliveira *et al.* (2012) *R. radula*; *R. sampaioanus*; *R. brigantinus* e *R. henriquesii*, e nas cultivares comerciais ‘Arapho’; ‘Apache’ e ‘Loch Ness’ por Sousa *et al.* (2007).

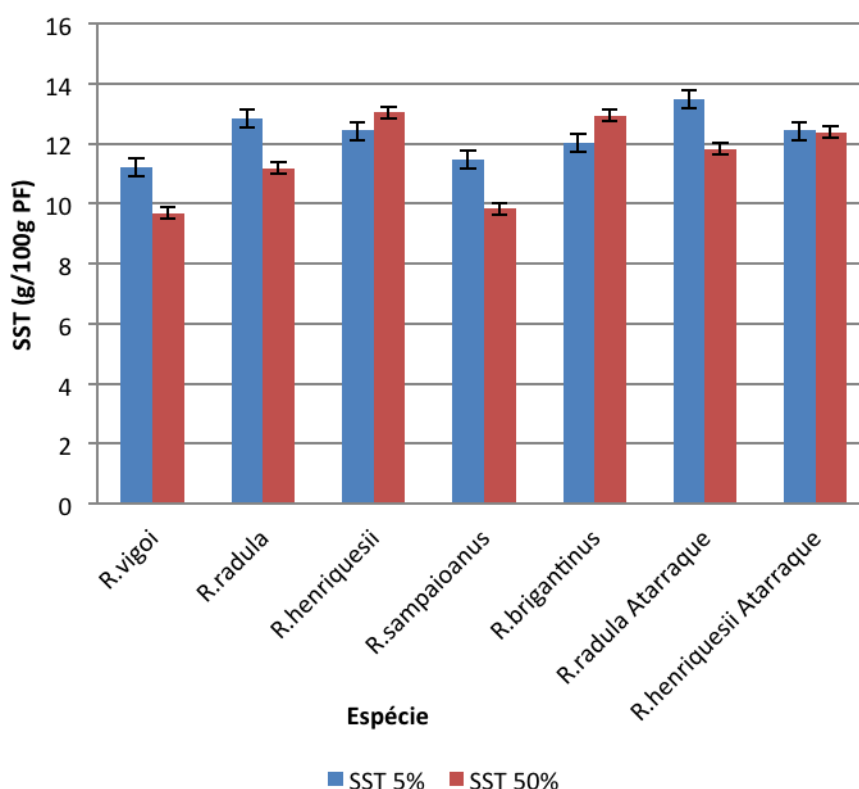


Figura 10-Sólidos solúveis totais nos 5 % e 50 % da produção. N=3 plantas para *R. henriquesii*, *R. henriquesii* atarraque e *R. radula* atarraque; N=4 plantas para *R. radula* e *R. sampaioanus*; N=6 plantas para *R. brigantinus* e *R. vigo*i. As barras representam duas vezes o erro da média.

A percentagem de matéria seca (Figura 11) foi superior na espécie *R. radula*, com e sem modalidade atarraque ambas com 20,0 %. A *R. vigo*i modalidade frio foi a que apresentou menor percentagem de matéria seca, com 15,2 %.

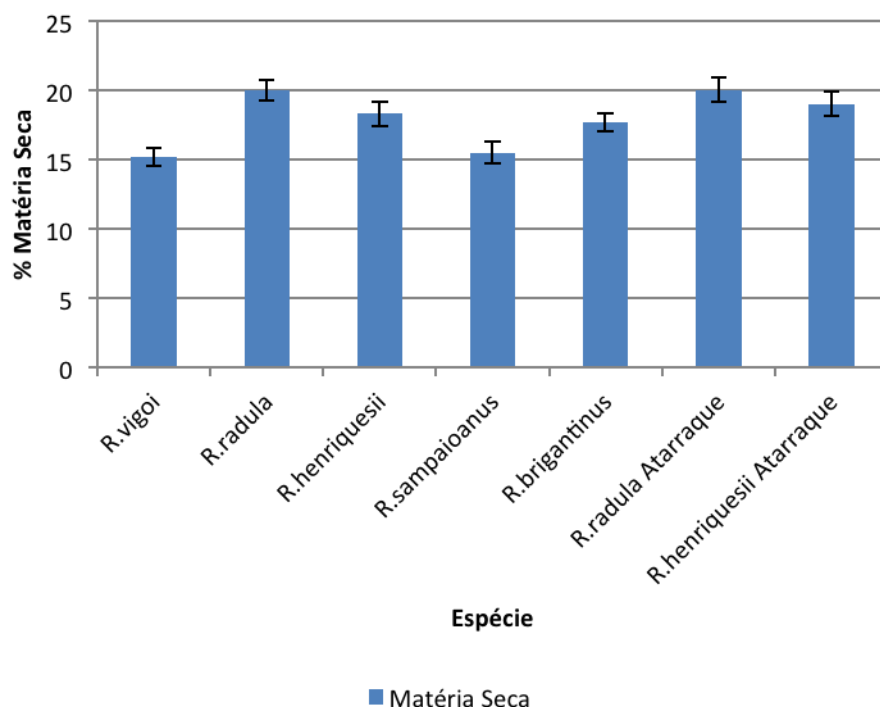


Figura 11-Percentagem de matéria seca. N=3 plantas para *R. henriquesii*, *R. henriquesii* atarraque e *R. radula* atarraque; N=4 plantas para *R. radula* e *R. sampaioanus*; N=6 plantas para *R. brigitinus* e *R. vigo*i. As barras representam duas vezes o erro da média.

4.4.2-Acidez titulável e pH

Os valores de acidez titulável e pH (Figura 12) não apresentaram diferenças significativas entre espécies, situando-se entre 1,0 e 1,5 g ácido cítrico/100 g peso fresco para acidez titulável e entre 3,5 e 4,0 para o pH.

Nos estudos feitos por Oliveira *et al.* (2012) os valores da acidez titulável foram superiores para as quatro primeiras espécies, tendo-se destacado a espécie *R. brigitinus* com 10,2 g ácido cítrico/100 g peso fresco. Para as cultivares 'Arapaho' e 'Loch Ness' os valores da acidez titulável foram 2,2 e 3,4 g/l, respectivamente (Sousa *et al.*, 2007).

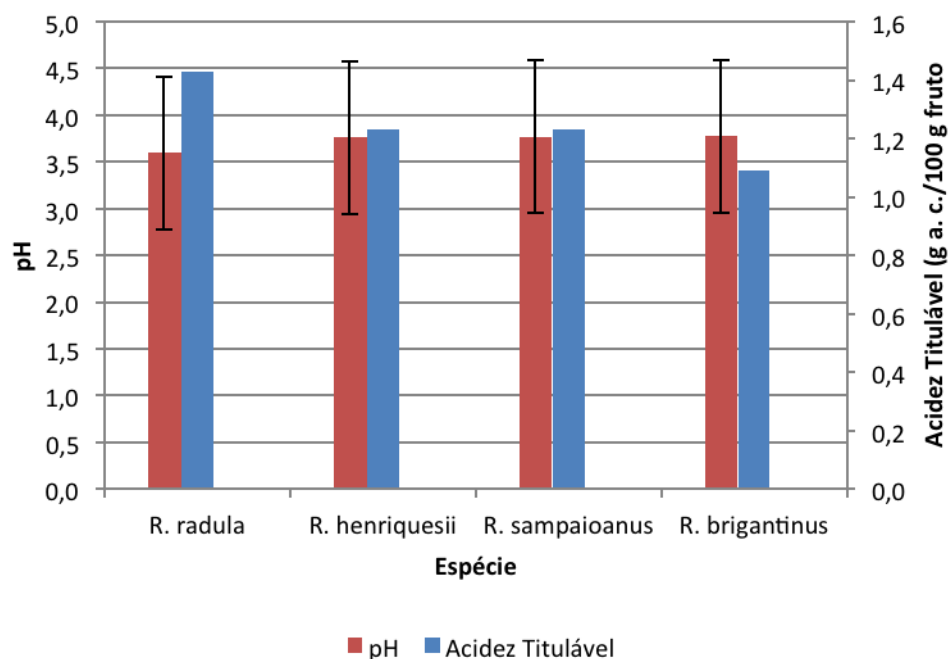


Figura 12-Acidez titulável e pH. N=3 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média. Nota: Para a acidez titulável o SE=0.

4.4.3-Razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal

As espécies *R. vigoi* e *R. brigantinus* apresentaram um formato do fruto mais largo que comprido, as espécies *R. radula* e *R. henriquesii* apresentaram um fruto ligeiramente mais comprido que as anteriores. Por fim a espécie *R. sampaioanus* apresentou um fruto esférico com uma razão muito perto de 1 (Figura 13).

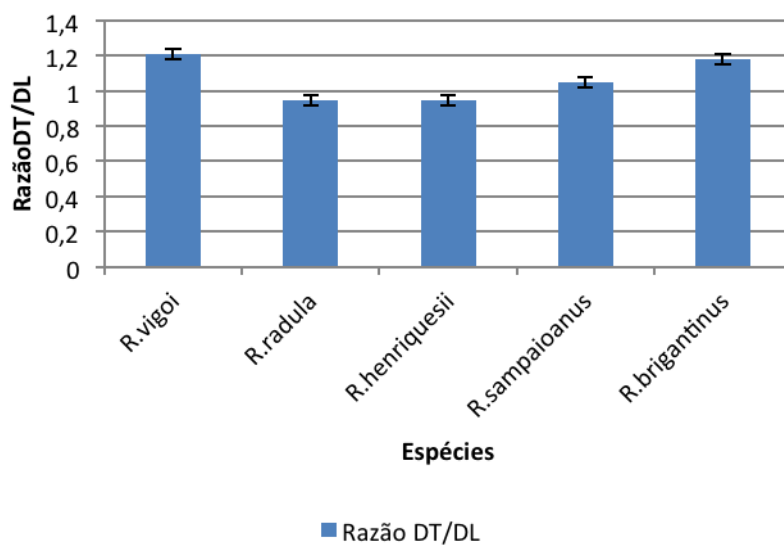


Figura 13-Razão diâmetro transversal (DT)/diâmetros longitudinal (DL). N=10 frutos. As barras representam duas vezes o erro da média.

4.4.4-Comercialização de amoras silvestres

Os resultados obtidos na exportação do fruto da espécie *R. ulmifolius* mostraram um mercado com muita aceitação por parte deste tipo de frutas silvestres. As exigências organoléticas dos mercados são comuns às amoras comerciais. Assim as amoras silvestres apresentaram vários pontos fortes e fracos (Quadro 15), que apenas poderão ser melhorados numa perspectiva de melhoramento (aumento do calibre, aumento da acidez, aroma e sabor). Os frutos destacaram-se pela sua elevada vida pós-colheita.

Quadro 15-Análise da comercialização

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> • Aceitação e procura de amoras silvestres no mercado; • Excelente vida pós-colheita (“shelf life”); 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamanho manifestamente reduzido; • Reduzido sabor (acidez); • Não apresentou qualidades organoléticas de excelência.

4.5-Ensaio *Rubus ulmifolius*

4.5.1- Caracterização do fruto

A variabilidade dentro da espécie *R. ulmifolius* é claramente demonstrada nos resultados obtidos neste ensaio (Quadro 16), com todas as características analisadas a apresentarem diferenças significativas. As variedades que apresentam fruto com mais peso foram a *R. ulmifolius* “Fataca” e a *R. ulmifolius* “Sommer” ambas com 1,9 g. Analisando a razão Dt/DI, concluiu-se que a *R. ulmifolius* “Sommer” tem um formato do fruto completamente diferente das outras duas (Figura 25), com um diâmetro longitudinal muito superior ao transversal (cilíndrico), enquanto as outras duas são esféricas.

Os teores em sólidos solúveis totais apresentaram diferenças entre variedades. A *R. ulmifolius* “Arripiado” foi a que apresentou teores superiores, quer nos 5 % quer nos 50 % de produção.

A percentagem em matéria seca apresentou diferenças entre as variedades. A *R. ulmifolius* “Arripiado” foi a que registou maior percentagem com 26,6 e a *R. ulmifolius* “Fataca” a menor percentagem com 22,1.

Quadro 16-Peso do fruto, razão diâmetro transversal/diâmetro longitudinal, SST e percentagem de matéria seca.

Espécie	Fruto			
	Peso (g)	Razão Dt/DI	SST	% Matéria Seca
<i>R. ulmifolius</i> “Fataca”	1,9 a	1,0 a	13,1 b	22,1 c
<i>R. ulmifolius</i> “Arripiado”	1,2 b	1,0 a	18,9 a	26,6 a
<i>R. ulmifolius</i> “Sommer”	1,9 a	0,8 b	15,9 b	24,6 b
Média Geral	1,7	0,9	16,0	24,4
EPM	0,0	0,0	0,7	0,4
Nível de Significância	<0,000	<0,000	0,003	0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EPM-Erro padrão da média. N=3 para o peso, sólidos solúveis totais (SST) e percentagem de matéria seca; N=10 para a razão diâmetro transversal/diâmetro transversal.

As duas variedades apresentaram valores de pH na gama do neutro, entre 5,0 e 6,0 e valores de acidez muito reduzidos. Comparativamente com as espécies utilizadas anteriormente (Figura 14), a espécie *R. ulmifolius* é muito menos ácida, tem maiores teores em sólidos solúveis totais e em matéria seca. Uma vez que as plantas se encontravam em ambiente natural o principal fator limitante foi a fraca disponibilidade de água para as plantas.

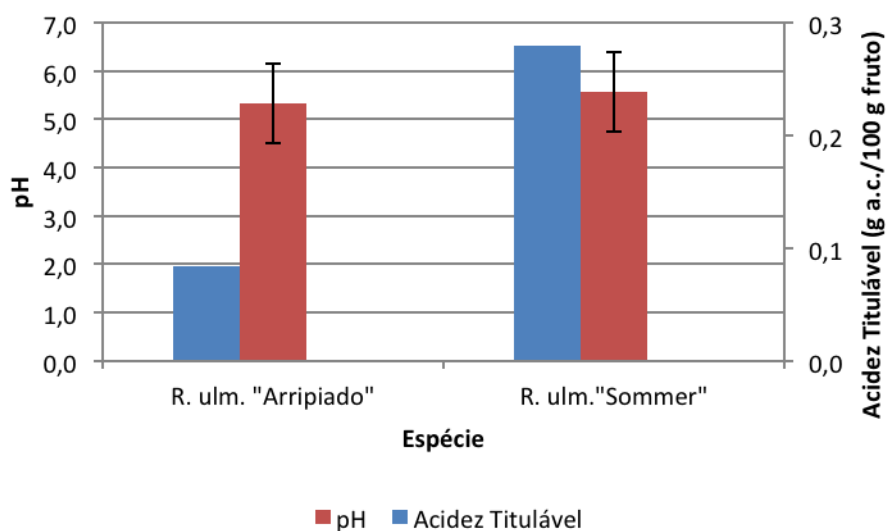


Figura 14-Acidez titulável e pH. N=3 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média. Nota: Para a acidez titulável o SE=0.

4.6-Observação de pragas e doenças

Uma das pragas mais importante observada foi os afídeos (Figura 21), que ocorreram na maior parte das espécies, mas com maior incidência na espécie *Rubus sampaioanus*. Esta praga mostrou preferência pelos lançamentos do ano (turiões), geralmente junto ao ápice vegetativo, e acompanhou todo o crescimento e desenvolvimento das folhas. Não apresentou tendência em passar para os lançamentos de 2ºano. Outra praga não menos importante foi os ácaros eriofídeos, apareceram em todas as espécies, com maior incidência na espécie *Rubus vigoii*. Este facto pode ser explicado por esta espécie ter floração mais tardia, podendo o ácaro permanecer mais tempo na flor e causar maior prejuízo. Esta praga instala-se logo no período da floração, causando distúrbios nalgumas drupéolas dos futuros frutos, que à altura da maturação, ao invés de ficarem pretas/roxas ficam avermelhadas. Desta forma o fruto não apresenta coloração homogênea das drupéolas não podendo ser comercializado (Ferreira e Pina, 2012).

A doença mais importante foi a ferrugem (Figura 20). Nos ensaios esteve presente em todas as espécies, mas com maior incidência na *Rubus sampaioanus*. Este facto pôde estar relacionado com a permanência de folhas nesta espécie, durante o Inverno, existindo desta forma órgãos para o fungo se manter ativo. Esta doença começou por aparecer nos lançamentos de 2ºano mas rapidamente passou para os lançamentos do ano. A falta de produtos homologados dificultou o seu controlo. Uma outra doença, a alternariose (Figura 22) esteve presente em todas as espécies, não representando ameaça para a cultura. A podridão cinzenta (Figura 23) apareceu nalguns frutos em estado avançado de maturação, não sendo significativo. Foram também encontradas plantas com sintomas de fitoplasma (Figura 24), o qual se veio a confirmar pela UESAFSV.

4.7- Caracterização fitoquímica

As espécies *R. henriquesii* e *R. radula* foram as que apresentaram maior teor em fenóis com 42,6 e 38,5 mg EAG/g peso seco, respectivamente. Os valores da capacidade antioxidante foram superiores na *R. vigoii* com 40,0 mmol ET/10 g peso seco, seguida das espécies *R. henriquesii* e *R. ulmifolius* "Fataca" com 36,3 e 35,65 mmol ET/10 g peso seco, respectivamente (Figura 15).

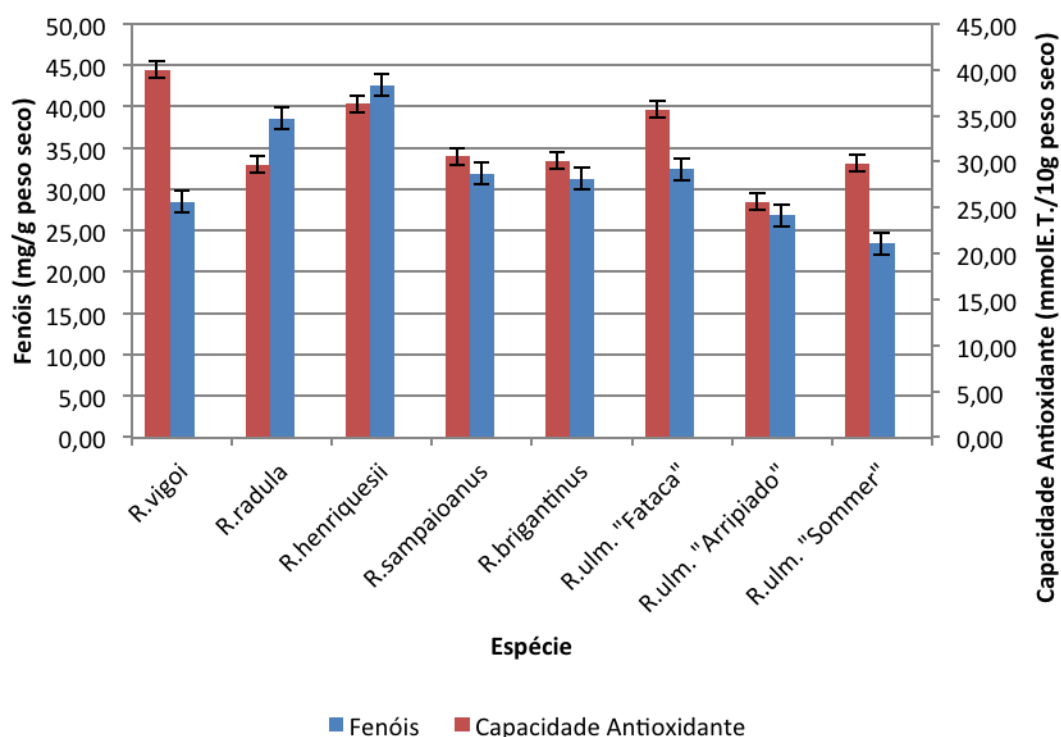


Figura 15-Fenóis (mg Equivalentes de Ácido Gálico/g peso seco) e Capacidade Antioxidante (mmol Equivalentes Trolox/10 g peso seco). N=9 repetições. As barras representam duas vezes o erro da média.

4.8- Caracterização citogenética de uma variedade da espécie *R. ulmifolius*

O número básico cromossómico do género *Rubus* é $x=7$, existindo espécies com grau de plóidia que pode ir desde diplóide a duodecaploide. Os cromossomas são bastante pequenos, o que dificulta os estudos morfológicos podendo ir de 1,5 μm a 2,0 μm nas amoras nativas de Inglaterra ou 1,0 μm a 4,0 μm nas do continente Americano (Jennings, 1988). O facto de algumas espécies apresentarem cromossomas pequenos, provavelmente poderá estar relacionado com mudanças estruturais, como translocações e deleções dos cromossomas de tamanho comum (Iwastshubo, 1995).

Devido à reduzida dimensão dos cromossomas ($\pm 1 \mu\text{m}$) (Figura 17) foi extremamente difícil e problemática a contagem dos cromossomas. Em todas as células seleccionadas (Figura 16) foram contados 14 cromossomas provando que o material era diplóide ($2n=2x=14$).

O protocolo original foi adaptado de Ahloowalia (1965), a fase de hidrólise otimizada com adaptações de Naruhashi (2002) e utilização de um conjunto de enzimas (celulase + pectinase) mencionado por Schwarzacher e Heslop-Harrison (2000) e por Preeda (2007). Estas enzimas permitiram uma melhor digestão das raízes. As preparações feitas com material resultante desta modificação permitiram uma melhor observação do conteúdo celular, mas por outro lado não ajudaram na observação dos cromossomas. Foi também utilizado acetato de ferro como mordente do carmin acético, com posterior aquecimento. Os núcleos apresentavam-se mais corados, acabando por não ajudar na observação dos cromossomas.

Os resultados obtidos estão de acordo com estudos feitos por Gustafsson em 1939 e por Thompson em 1995 que consideraram a espécie *R. ulmifolius* diplóide. Estes resultados afastam a possibilidade de um grau superior de polimorfia, que poderia explicar o formato e o aumento do tamanho dos frutos. Por outro lado, de acordo com Jennings (1988) este material poderá ser resultado da facilidade que esta espécie tem em hibridar com outras espécies da mesma subsecção.

Perante a característica do tamanho do fruto (superior comparativamente a outras espécies selvagens em estudo) e de acordo com os resultados deste estudo ($2n=2x=14$) este material apresenta um potencial elevado por forma a diversificar as espécies nos programas de melhoramento.

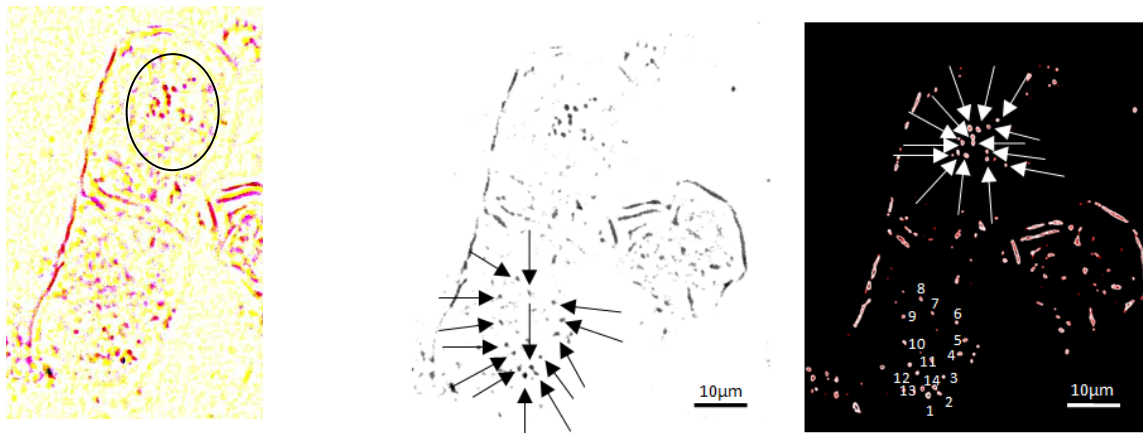


Figura 16-Célula de *R. ulmifolius* "Sommer"; cromossomas em interfase $2n=14$. Nota: A célula é a mesma com diferentes focagens.

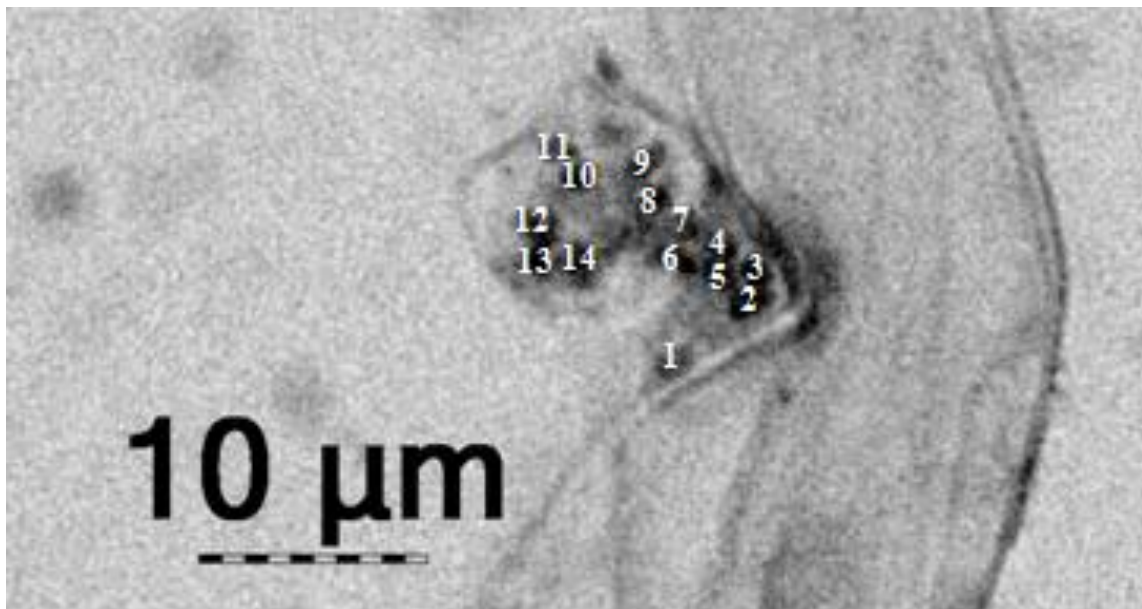


Figura 17-Cromossomas de *R. ulmifolius* "Sommer" $2n=14$.

4.9-Avaliação global do perfil agronômico e fitoquímico das espécies

Com os resultados obtidos, procurou fazer-se uma avaliação global das espécies em cultura (Quadro 17), que considerou cinco parâmetros dos anteriormente estudados, por forma a selecionar as espécies com melhores características agronômicas e fitoquímicas. Cada parâmetro foi classificado recorrendo a uma escala de 1 a 3 valores, em que 3 corresponde à melhor pontuação e 1 à pior, foram ainda ponderados de acordo com a sua importância.

Nas inflorescências foram considerados o número e o tamanho destas. A avaliação dos frutos foi feita com base no número de frutos por inflorescência e no peso fresco. No caso da produção foram considerados a produção total e a percentagem de refugo. Na avaliação da qualidade do fruto foram considerados a percentagem de matéria seca, mas na percentagem de matéria seca foram beneficiadas as espécies com menores valores. Às características fitoquímicas, apesar de terem sido os dois últimos parâmetros a serem analisados, foi-lhes dada elevada importância. No final foi feito o somatório de todos os parâmetros, tendo-se destacado duas espécies, a *R. sampaioanus* e a *R. henriquesii*.

Na espécie *R. ulmifolius* não foram avaliados todos estes parâmetros dado estar em condições de ensaio completamente diferentes das anteriores, das três variedades foram selecionadas a “Sommer” e a “Fataca”, por apresentarem variabilidade ao nível do fruto muito interessante.

Quadro 17-Avaliação final da caracterização agronômica e fitoquímica das espécies

Espécie	Porte	Inflor.		Fruto		Produção		% M.S.	Fenóis	Total
		Nº	Tam.	Nº	Peso	Total	Ref.			
<i>R. vigoii</i>	Prostrado	1	3	1	2	1	2	3	1	23
<i>R. radula</i>	Prostrado	1	1	3	2	3	3	1	3	30
<i>R. henriquesii</i>	Prostrado	2	1	2	2	3	3	2	3	33
<i>R. sampaioanus</i>	Prostrado	3	1	1	3	3	3	2	2	34
<i>R. brigantinus</i>	Prostrado	1	2	3	1	3	3	2	2	29
Fator de ponderação		2	1	1	2	3	1	2	2	

Nota: Inflor.-Inflorescência; Tam.-Tamanho; Ref.-Refugo; M.S.-Matéria Seca.



Figura 18-Plantas de *R. vigo* que não foram ao frio, à esquerda e que foram ao frio, à direita.



Figura 19-Plantas de *R. vigo* que foram ao frio, à esquerda. Na imagem da direita pode-se visualizar a diferença na percentagem de abrolhamento, entre uma planta que foi ao frio e outra que não foi.



Figura 20-Ferrugem em folhas de *R. sampaioanus* e nos lançamentos de de 2ºano de *R. radula*.



Figura 21-Afídeos em lançamentos do ano (turiões).



Figura 22-Alternariose em folhas da espécie *R. radula*.



Figura 23-Botrytis em frutos da espécie *R. vigoii*.



Figura 24-Fitoplasma numa planta da espécie *R. henriquesii*.

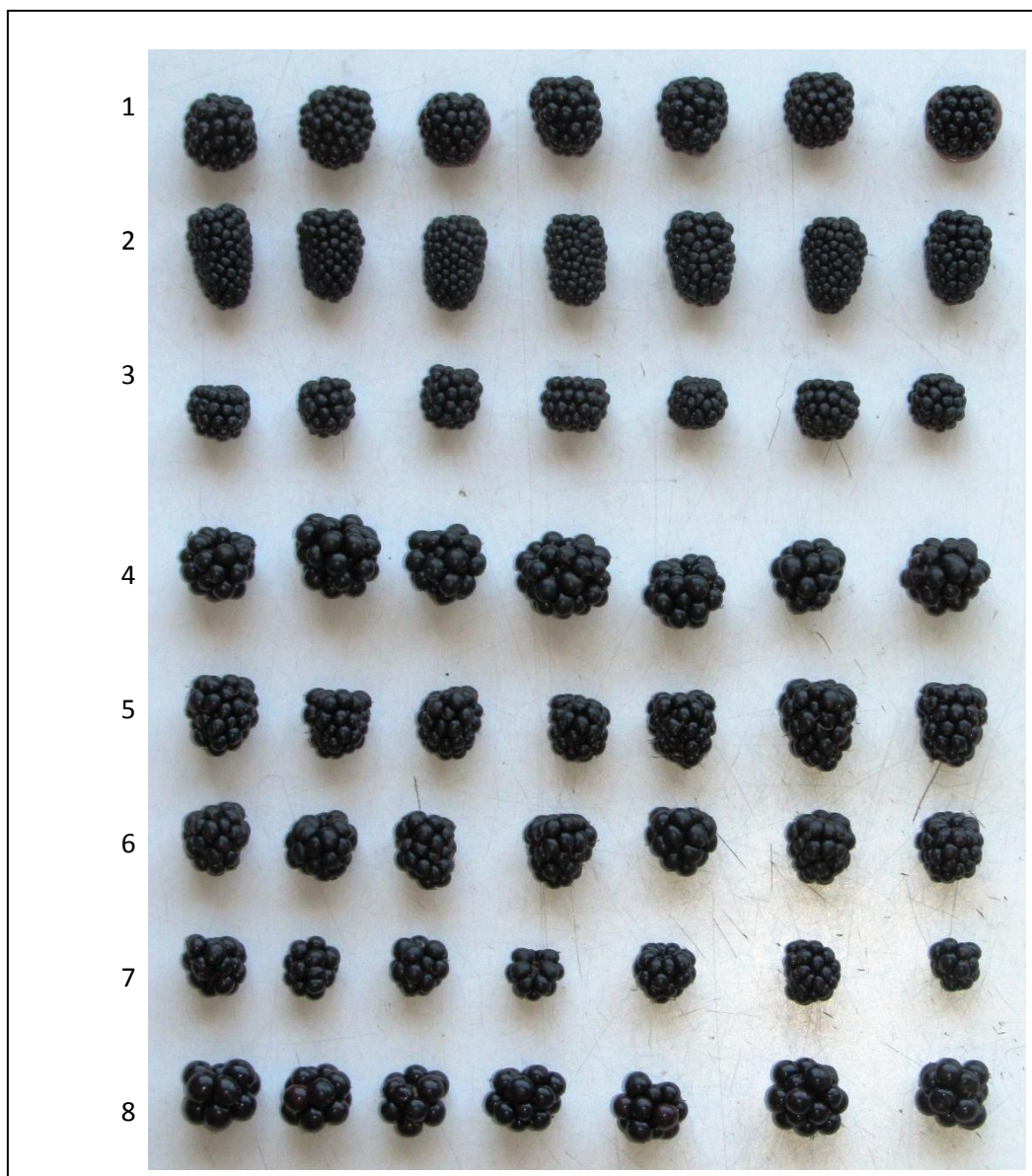


Figura 25-Amostragem de frutos das espécies estudadas.

1. *R. ulmifolius* var. "Fataca"
2. *R. ulmifolius* var. "Sommer"
3. *R. ulmifolius* var. "Arripiado"
4. *R. sampaioanus*
5. *R. radula*
6. *R. henriquesii*
7. *R. brigantinus*
8. *R. vigo*

5. Conclusões

As baixas percentagens de abrolhamento verificadas indiciam elevadas exigências em frio por parte das espécies estudadas (oriundas da região de Trás-os-Montes), podendo condicionar o seu cultivo em regiões do Sul ou junto ao Litoral. As espécies apresentaram elevado vigor vegetativo e uma entrada em produção muito tardia, que prejudicou a qualidade e quantidade da fruta produzida. O facto das plantas apresentarem cachos muito grandes com muitos frutos dificultou a homogeneidade da maturação. Das cinco espécies utilizadas nos três primeiros ensaios, concluiu-se que apenas a *R. henriquesii* e *R. sampaioanus* apresentaram características vegetativas e produtivas (quantidade e qualidade da produção) aceitáveis. Uma possível indução da *R. sampaioanus* à precocidade melhorará em muito o desempenho desta espécie. A modalidade de frio resultou positivamente na espécie *R. vigoii*, mostrando ser uma boa solução para aumentar a precocidade, o abrolhamento e o número de inflorescência por lançamento. No entanto, esta técnica que poderá favorecer a introdução destas espécies em cultura obriga à produção em substrato. A técnica de atarraque de cachos não apresentou efeitos significativos, mas teve tendência para baixar a produção por planta, concluindo-se não ser vantajosa para o aumento do calibre do fruto destas espécies. Na espécie *R. ulmifolius* verificou-se grande variabilidade ao nível da forma e do calibre do fruto, com duração pós-colheita (*shelf-life*) elevada. A variedade “Sommer” confirmou-se ser diploide.

As espécies silvestres *R. henriquesii* e *R. sampaioanus* apresentam elevado valor agronómico que deverá ser combinado com a *R. ulmifolius* variedade “Sommer” e “Fataca”. No entanto, as duas espécies e a variedade “Fataca” deverão ser alvo de estudos de contagem cromossómica. Possíveis cruzamentos deverão ir no sentido de aumento do calibre do fruto, melhores produtividades (sustentabilidade económica), maior aroma e sabor, nunca perdendo as características de elevado valor fitoquímico. O melhoramento deverá permitir diferenciar estas espécies das cultivares comerciais, preservar ao máximo as qualidades silvestres por forma a dar-lhes valor acrescentado na comercialização e seccionamento de mercado.

6.Referências Bibliográficas

- Ahloowalia, B.S. 1965. A root tip squash technique for screening chromosome number in *Lolium*. *Euphytica*. 14: 170-172.
- Andersen, P.C. e Croker, T.E. 2001. The blackberry. University of Florida. IFAS Extension. HS 807.
- Atkinson, C.J., Sunley, R.J., Jones, H.G., Brennan, R. e Darby, P. 2004. DEFRA Desk study on winter chill in fruit.
- Carter, M. e Clark, J.R. 2002. Chilling responses of Arkansas blackberry cultivars. *Horticultural studies*.
- Coutinho, A. X.P. 1939. Flora de Portugal. 2ª Edição.
- Cortell, J.M. e Strik, B.C. 1997. Effects of florican number in 'Marion' trailing blackberry. II Yield components and dry mass partitioning. *J. Amer. Soc. HortScience*. 122(5):611-615.
- Dale, A., Sample, A. e King, E. 2003. Breaking dormancy in red raspberries for greenhouse production. *HortScience* 38 (4): 505-519.
- Dale, A., Oliveira, P.B. e Valdivieso, T. 2010. Are there common systems for flower bud initiation in the genus *Rubus*?. *Acta Hort. (ISHS)* 926:215-219.
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C. e Davies, H.V. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J Sci Food Agric* 80:1307-1313.
- DiTomaso, J.M. 2002. Wild blackberries. University of California Agriculture and Natural Resources. Pest Notes. Publication 7434.
- Ferreira, M.A. e Pina, S. 2012. Amora de silva. Folhas de divulgação Herdade Experimental da Fataca. 16 p.
- Finn, C.E., Strik, B.C., Yorgey, B., Qian, M., Martin, R.R. e Peterson, M. 2010. 'Wild Treasure' thornless trailing blackberry. *HortScience* 45(3):434-436.
- Finn, C.E., Clark, J.R. 2012. Blackberry. In: Badenes, M.I., Byrne, D.H. (eds), *Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding*, DOI 10.1007/978-1-4419-0763-9_5. 151-190.
- Franco, J. A. 1971. Nova Flora de Portugal (Continente e Açores). Vol. II.
- Gonçalves, D.M. 2011. Enraizamento de amora (*Rubus* sp.) para produção de fruta na época e fora de época. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

- Gustafsson, A. 1939. Differential polyploidy within the blackberries. *Hereditas*. 25: 33-47.
- Gustafsson, A. 1942. The origin and properties of the European blackberry flora. *Hereditas*. 28: 249-277.
- Heslop-Harrison, Y. 1953. Cytological studies in the genus *Rubus* L. I. Chromosome numbers in the British *Rubus* flora.-*New Phytol*. 53: 22-39.
- Iwastshubo, Y., Naruhashi, N. e Weber, H.E. 1995. Chromosome numbers of European blackberries (*Rubus* subg. *Rubus*, Rosaceae). *Pl. Syst. Evol*. 198: 143-149.
- Jennings, D.L. 1988. Raspberries and Blackberries: Their Breeding, Diseases and Growth. *Academic Press*, London. 230p.
- Moore, J.N. e Skirvin, R.M. 1990. Blackberry management. In: Galletta, G.J. e Himelrick (eds), *Small Fruit Crop Management*. Prentice Hall, New Jersey, 214-244.
- Monasterio-Huelin, E. 1998. *Rubus* L. En S.Castroviejo (Coord. Gral.), *Flora Ibérica*, 6: 16-71. CSIC, Madrid.
- Naruhashi, N., Iwastshubo, Y. e Peng, C. 2002. Chromosome numbers in *Rubus* (Rosaceae) of Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin*. 43: 193-201.
- Oliveira, P.B. 2006. A produtividade e a acumulação de reservas em framboesas remontantes (*Rubus Idaeus* L.) em resposta à população, data e intensidade de corte dos lançamentos do ano. Tese de doutoramento em Engenharia Agronómica. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.
- Oliveira, P.B., Lopes-da-Fonseca, L., Tavares, L., Santos, C.N., Sousa, V. e Pinto, P. 2012. Amoras endémicas, qual o seu potencial agronómico e fitoquímico. IV Colóquio Nacional da Produção de Pequenos Frutos. *Faro*, 52-57.
- Pimpão, R. C. S. 2009. Compostos fenólicos e a sua actividade antioxidante em espécies de *Juniperus*: Análise da produção sazonal e sob condições de stresse. Dissertação de mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia. Universidade de Lisboa. Lisboa.
- Preeda, N., Yanagi, T., Sone, K., Takeda, S. e Okuda, N. 2007. Chromosome observation method at metaphase and pro-metaphase stages in diploid and octaploid strawberries. *Scientia Horticulturae* 114: 133-137.
- Schwarzacher, T. e Heslop-Harrison, P. 2000. *Practical in situ Hybridization*. BIOS Scientific Publishers 203p

- Sønsteby, A. e Heide, O.M. 2009. Effects of photoperiod and temperature on growth and flowering in the annual (primocane) fruiting raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivar 'Polka'. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 84 (4): 439-446.
- Sousa, M.B., Curado, T., Vasconcellos, F.N., Trigo, M.J. 2007. Amora-qualidade pós-colheita. Folhas de divulgação AGRO 556. 28p.
- Strik, B.C., Clark, J.R., Finn C.E. Banados, M.P. 2008. Worldwide production of blackberry. *Acta Hort. (ISHS)* 777:209-217.
- Takeda, F. 1987. Some factors associated with fruit maturity range in cultivars of the semi-erect, tetraploid thornless blackberry. *HortScience* 22(3):405-408.
- Takeda, F. 2002. Winter pruning affects yield components of 'Black Satin' Eastern thornless blackberry. *HortScience*. 37 (1):101-103.
- Takeda, F., Strik, B.C., Peacock, D. e Clark, J.R. 2002. Cultivar differences and the effect of winter temperature on flower bud development in blackberry. *J. Amer. Soc. HortScience*. 127 (4): 495-501.
- Tavares, L., Figueira, I. McDougall, G., Vieira, H., Stewart, D., Alves, P., Ferreira, R.B e Santos, C. 2013. Neuroprotective effects of digested polyphenols from wild blackberry species. *Eur. J. Nutr.* 52 (1): 225-236.
- Thompson, M. M. 1995. Chromosome numbers of *Rubus* species at the National Clonal Germplasm Repository. *HortScience* 30: 1447-1452.
- Thompson, E., Strik, C., Clark, J.R. e Finn, C.E. 2007. Flowering and fruiting patterns of primocane-fruiting blackberries. *HortScience*. 42(5):1174-1176.
- Warmund, M.R., Takeda, F. e Davis G.A. 1992. Supercooling and extracellular ice formation in differentiating – buds of Eastern thornless. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117(6): 941-945.
- Warmund, M.R. e Krumme, J. 2005. A chilling model to estimate rest completion of erect blackberries. *HortScience* 40(5): 1259-1262.
- White, J.M., Wainwright e Ireland, C.R. 1999. Endodormancy and paradormancy in the raspberry cultivar 'Glen Clova'. *Acta Hort. (ISHS)* 505: 199-205.
- Yazzeti, D. e Clark, J.R. 2001. Evaluation of chilling Requirements for six Arkansas blackberry cultivars utilizing stem cuttings. *Inquiry*, 90-95. Vol. II.

Anexo I-Padrão de maturação das inflorescências das diferentes espécies presentes no ensaio de caracterização agrônômica

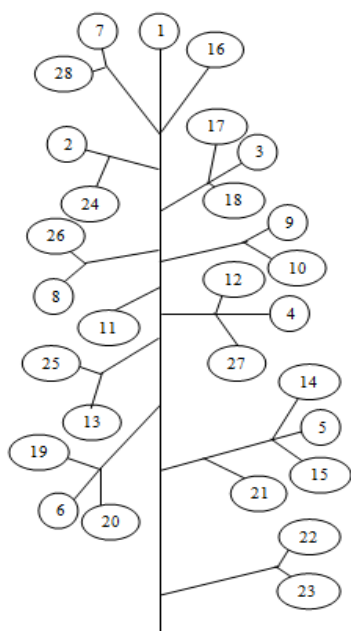


Figura 1-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie *R. radula*. Ordem de maturação está representada de "1" a "6".

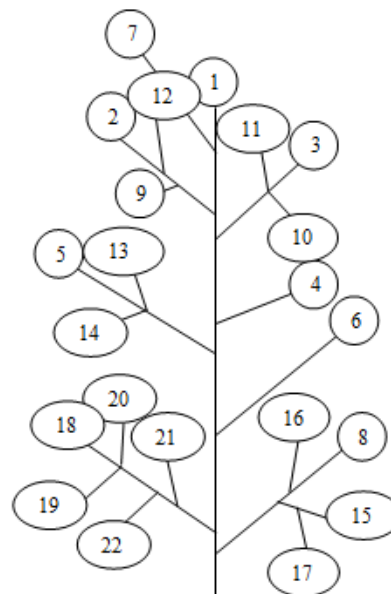


Figura 27-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie *R. henriquesii*. Ordem de maturação está representada de "1" a "6".

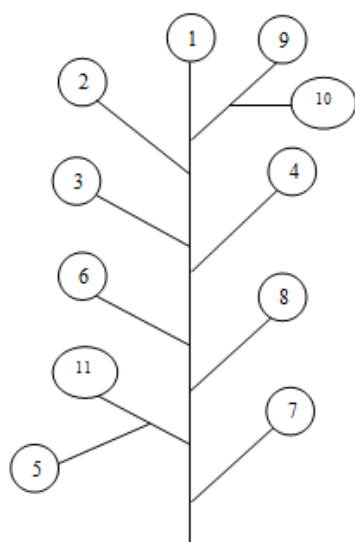


Figura 28-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie *R. sampaioanus*. Ordem de maturação está representada de "1" a "6".

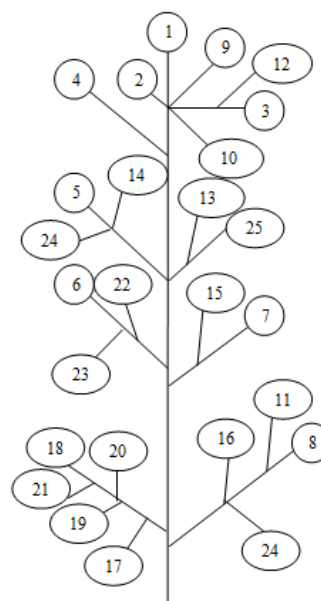


Figura 29-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie *R. brigantinus*. Ordem de maturação está representada de "1" a "6".

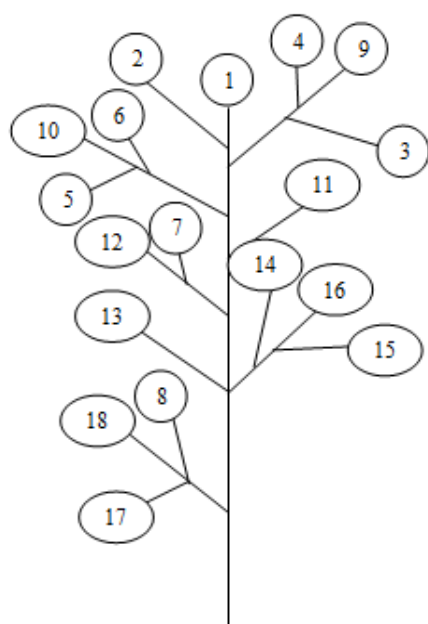


Figura 30-Estrutura e padrão de maturação de uma inflorescência de um ramo de fruto proveniente do terço superior de um lançamento secundário da espécie *R.vigoi*. Ordem de maturação está representada de “1” a “6”.